

Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie
I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, **V. Babes**, Bukarest, **O. Ball**, Prag, **E. F. Bashford**, London, **S. Belfanti**, Mailand, **A. Besredka**, Paris, **J. Bordet**, Brüssel, **A. Breinl**, Liverpool, **L. Brieger**, Berlin, **A. Calmette**, Lille, **A. Dieudonné**, München, **R. Doerr**, Wien, **M. Dorset**, Washington, **E. v. Dungern**, Heidelberg, **S. Flexner**, New York, **U. Friedemann**, Berlin, **P. Froesch**, Berlin, **G. Gaffky**, Berlin, **M. v. Gruber**, München, **L. Haendel**, Berlin-Lichterfelde, **M. Hahn**, Freiburg i. B., **A. Heffter**, Berlin, **L. Hektoen**, Chicago, **M. Jacoby**, Berlin, **C. O. Jensen**, Kopenhagen, **K. Kilschalt**, Königsberg i. Pr., **S. Kitasato**, Tokio, **W. Kolle**, Frankfurt a. M., **W. Kruse**, Leipzig, **K. Landsteiner**, Wien, **C. Levaditi**, Paris, **L. von Liebermann**, Budapest, **Th. Madsen**, Kopenhagen, **C. J. Martin**, London, **L. Michaelis**, Berlin, **R. Muir**, Glasgow, **C. Moreschi**, Pavia, **P. Th. Müller**, Graz, **M. Neisser**, Frankfurt a. M., **F. Neufeld**, Berlin, **F. Nuttall**, Cambridge, **R. von Ostertag**, Berlin, **R. Paltauf**, Wien, **A. Pettersson**, Stockholm, **R. Pfeiffer**, Breslau, **E. P. Pick**, Wien, **C. J. Salomonsen**, Kopenhagen, **A. Schattenfroh**, Wien, **Cl. Schilling**, Berlin, **P. Schmidt**, Halle a. S., **Th. Smith**, Boston, **G. Sobernheim**, Berlin, **V. C. Vaughan**, Ann Arbor, **A. v. Wassermann**, Berlin, **W. Weichardt**, Erlangen, **A. Wladimiroff**, St. Petersburg, **A. E. Wright**, London, **D. Zabolotny**, St. Petersburg

herausgegeben von

E. FRIEDBERGER	R. KRAUS	H. SACHS	P. UHLENHUTH
(Greifswald.)	(Buenos Aires.)	(Frankfurt a. M.)	(Straßburg i. E.)

Sechszwanzigster Band

Mit 1 Tafel, 12 Figuren und 11 Kurven im Text



Jena
Verlag von **Gustav Fischer**
1917

Alle Rechte vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1. (Ausgegeben am 3. Januar 1917.)

	Seite
Abel, Friedrich Loeffler. In memoriam. Mit 1 Abbildung im Text .	1
Sachs, H., Dem Andenken Paul Ehrlichs. (14. März 1854—20. August 1915.) Mit 1 Abbildung im Text	7
Friedberger, E., Dem Andenken Paul Heinrich Römers. Mit 1 Abbildung im Text	11
Hübschmann, P., Das Verhalten der „aktiven“ Sera bei der Wassermannschen Reaktion und die antikomplementäre Wirkung alter „aktiver“ Sera. [Aus dem Pathologischen Institut der Universität Leipzig]	33
Rieckenberg, H., Eine neue Immunitätsreaktion bei experimenteller Trypanosomen-Infektion: die Blutplättchenprobe. [Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“; Laboratorium für Tropenkrankheiten (Leiter: Prof. Dr. Schilling)]	53
Müller, Wilhelm, Die wichtigsten immunbiologischen Erfahrungen über Typhusdiagnostik und Typhusschutzimpfung im Kriege. [Aus dem k. u. k. Militärbeobachtungsspital No. I in Troppau] .	65
Umnus, O., Ruhr und ruhrähnliche Erkrankungen	83

Heft 2. (Ausgegeben am 9. März 1917.)

Bail, Oskar, Versuche über Choleraantitoxin. [Aus dem Hygienischen Institute der Deutschen Universität Prag]	97
Landsteiner, Karl, Ueber die Antigeneigenschaften von methyliertem Eiweiß. VII. Mitteilung über Antigene. [Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitals in Wien]	122
Landsteiner, Karl, und Lampl, Hans, Ueber die Einwirkung von Formaldehyd auf Eiweißantigen. VIII. Mitteilung über Antigene. [Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitals in Wien] . .	133
Landsteiner, Karl, und Barron, Cuthbert, Ueber die Einwirkung von Säure und Lauge auf Serumeiweißantigen (Restitution der Antigeneigenschaft). IX. Mitteilung über Antigene. [Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitals in Wien]	142

	Seite
Nathan, Ernst , Ueber die Zerstörung der Funktion alkoholischer Extrakte bei der Wassermannschen Reaktion durch Cobragift. (Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Extraktwirkung bei der Wassermannschen Reaktion.) [Aus der Dermatologischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. Karl Herxheimer)]	154

Heft 3. (Ausgegeben am 5. Mai 1917.)

Lampl, Hans , und Landsteiner, Karl , Quantitative Untersuchungen über die Einwirkung von Komplement auf Präzipitate. [Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitals in Wien]	193
Hahn, Martin , und Langer, Hans , Ueber das Verhalten der Immunkörper bei täglich wiederholter Blutentziehung. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B. (Direktor: Professor Dr. M. Hahn)]	199
Thomsen, Oluf , Studien über die Anaphylaxie (Antianaphylaxie). [Aus Statens Seruminstitut Kopenhagen.] Mit 3 Kurven im Text	213
Landsteiner, Karl , und Lampl, Hans , Ueber Antigene mit verschiedenartigen Acylgruppen. X. Mitteilung über Antigene. [Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitals in Wien]	258
v. Gröer, Franz , und Kassowitz, Karl , Studien über die normale Diphtherieimmunität des Menschen. III. Mitteilung. Ueber die normale Diphtherieimmunität der Erwachsenen. [Aus der k. k. Kinderklinik in Wien (Vorstand: Professor Dr. C. Frhr. v. Pirquet)]	277
Dold, Hermann , Immunisierungsversuche gegen das Bienengift. [Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie (Leiter: Privatdozent Dr. Dold) der Deutschen Medizin- und Ingenieurschule für Chinesen in Schanghai]	284

Heft 4. (Ausgegeben am 25. Juli 1917.)

Landsteiner, Karl , und Lampl, Hans , Ueber die Antigeneigenschaften von Azoproteinen. XI. Mitteilung über Antigene. [Aus der Prosektur des Wilhelminenspitals in Wien]	293
Pettersson, Alfred , Ueber den Verlauf der durch Serum und durch Leukocytenextrakt hervorgerufenen Bakteriolyse. [Aus der bakteriologischen Abteilung der Medizinischen Staatsanstalt in Stockholm.] Mit 2 Kurven im Text	305
Bierbaum, K. , Ueber die Wirkung des Salvarsans auf Rotlaufbacillen in vivo. [Aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich); Veterinärabteilung: Dr. K. Bierbaum]	325

	Seite
Ball, Oskar , Untersuchungen über Vibrionenvergiftung. [Aus dem Hygienischen Institute der Deutschen Universität Prag]	330
Neufeld, Ludwig , Ueber die Reaktion des kolloidalen Goldes mit normalen und pathologischen Flüssigkeiten. [Aus des Verfassers Laboratorium.] Mit 4 Kurven im Text	368
Tomarkin, E., und Suárez, P. , Präzipitation und Thermopräzipitation bei Vaccine. [Aus dem Laboratorium des Schweizer. Serum- und Impfinstitutes am Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten der Universität Bern (Direktor: Prof. Dr. W. Kolle)] .	385
Lange, Carl , Die Lebensdauer der für die Wassermannsche Reaktion benötigten Reagentien. [Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie, Berlin-Dahlem (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. A. v. Wassermann)]	396

Heft 5. (Ausgegeben am 17. September 1917.)

Sachs, H. , Ueber den Einfluß der Cholesterinierung auf die Empfindlichkeit der Organextrakte bei der Wassermannschen Reaktion. [Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Stellvertretender Direktor: Prof. H. Sachs)	451
Sachs, H., und Altmann, K. , Ueber den Einfluß von Temperatur und Reaktion des Mediums auf die Serodiagnostik der Syphilis. (Zugleich ein Beitrag zum Wesen der Wassermannschen Reaktion.) [Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich; stellvertretender Direktor: Prof. Dr. H. Sachs)]	460
Ritz, H., und Sachs, H. , Ueber Komplementinaktivierung durch Bakterien. (Ein Beitrag zur biologischen Bedeutung physikalischer Serumveränderungen, mit Bemerkungen zur Frage der Entstehung des Anaphylatoxins.) [Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich; stellvertretender Direktor: Prof. Dr. H. Sachs)]	483
Nathan, Ernst , Beiträge zur Kenntnis der Inaktivierbarkeit des Meer-schweinchenkomplements und ihrer Abhängigkeit von der Serum-beschaffenheit. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich)]	503
Sachs, H., und Stilling, E. , Ueber die Vermittelung hämolytischer Serumwirkungen durch Inulin. [Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Stellvertretender Direktor: Prof. H. Sachs)]	530

IV

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Georgi, W., und Seltz, A., Ueber die immunisatorische Erzeugung und Bindung hämolytischer Ambozeptoren durch die Organe des Meerschweinchens. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).] Mit 1 Figur im Text	545

Heft 6. (Ausgegeben am 28. Dezember 1917.)

Dietrich, W., Morphologische und biologische Beobachtungen an der Spirochäte der Weilschen Krankheit. [Aus der serologischen Abteilung (Prof. Dr. R. Otto) des Kgl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“, Berlin (stellvertretender Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Neufeld).] Mit 1 Tafel, 8 Figuren und 2 Kurven im Text	563
Nathan, Ernst, Ueber die Zerstörung der Extraktfunktion bei der Wassermannschen Reaktion durch Cobragift. II. Mitteilung. Der Einfluß des Calciumchlorids auf die Zerstörung der Extraktfunktion durch Cobragift. [Aus der Dermatologischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Karl Herzheimer)]	582
Rössle, Ueber Anaphylaxie	589
Felix, A., Serologische Untersuchungen an Fleckfieberkranken aus der asiatischen Türkei	602
Eicke und Mascher, W., Komplementschwund bei unbehandelter Spätsyphilis	620

Autorenverzeichnis.

- Abel 1.
Altmann, K., s.: Sachs, H.
Bail, Oskar 97, 330.
Barron, Cuthbert, s.: Landsteiner, Karl.
Bierbaum, K. 325.
Dietrich, W. 563.
Dold, Hermann 284.
Eicke und Mascher, W. 620.
Felix, A. 602.
Friedberger, E. 11.
Georgi, W., und Seitz, A. 545.
Gröer, Franz v., und Kassowitz, Karl 277.
Hahn, Martin, und Langer, Hans 199.
Hübschmann, P. 33.
Kassowitz, Karl, s.: Gröer, Franz v.
Lampl, Hans, und Landsteiner, Karl 193.
— s.: Landsteiner, Karl.
Landsteiner, Karl 122.
— und Barron, Cuthbert 142.
Landsteiner, Karl, und Lampl, Hans 133, 258, 293; s. auch: Lampl, H.
Lange, Carl 396.
Langer, Hans, s.: Hahn, Martin.
Mascher, W., s.: Eicke.
Müller, Wilhelm 65.
Nathan, Ernst 154, 503, 582.
Neufeld, Ludwig 368.
Pettersson, Alfred 305.
Rieckenberg, H. 53.
Ritz, H., und Sachs, H. 483.
Rössle 589.
Sachs, H. 7, 451; s. auch: Ritz, H.
— und Altmann, K. 460.
— und Stilling, E. 530.
Seitz, A., s.: Georgi, W.
Stilling, E., s.: Sachs, H.
Suárez, P., s.: Tomarkin, E.
Thomsen, Oluf 213.
Tomarkin, E., und Suárez, P. 385.
Umnus, O. 83.

Friedrich Loeffler. In memoriam.

Von Prof. Dr. **Abel** in Jena.

Mit 1 Abbildung im Text.

Am 9. April 1915 hat Friedrich Loeffler die Augen für immer geschlossen.

Sein Lebenswerk den Lesern dieser Zeitschrift noch einmal vor Augen zu führen, könnte fast als müßiges Beginnen erscheinen. Ist doch Loeffler einer der Heroen der bakteriologischen Forschung, dessen Name jedem Arzte über den



ganzen Erdball hin geläufig ist, und den zu den Unseren zählen zu dürfen für uns jetzt als Barbaren verschrieene Deutsche Stolz und Freude ist. In unserer schnellebigen Zeit aber wird der Name selbst hochbedeutender Männer gar zu leicht zum Schemen, zum Worte ohne Inhalt. Mögen daher, wie Dankbarkeit und Pietät gebieten, dem Gedächtnis des Dahingegangenen einige kurze Worte gewidmet sein!

Friedrich Loeffler, am 24. Juni 1852 zu Frankfurt a. O. geboren, war der Sohn eines Mannes, dessen Name als der eines Vorkämpfers für die Hebung der Stellung des Militärarztes und ihre Ausgestaltung zu der eines Sanitäts-offiziers hervorragenden Klang hat, des als Subdirektor der jetzigen Kaiser Wilhelms-Akademie für das militärärztliche Bildungswesen gestorbenen Generalarztes Dr. Friedrich Loeffler. Die Stellung des Vaters beeinflusste, wie es nahe-lag, die Berufswahl des Sohnes. Nach kurzer Studienzeit in Würzburg, von der aus er mit in den Krieg von 1870/71 zog, setzte Loeffler seine Ausbildung in den militärärztlichen Studienanstalten zu Berlin fort, legte 1874 sein Staatsexamen ab und war dann mehrere Jahre Militärarzt in Hannover und Potsdam. 1879 erhielt er ein Kommando an das einige Jahre zuvor errichtete Kaiserliche Gesundheitsamt und war dort zu-erst mit hygienisch-technischen Untersuchungen, insbesondere der Erprobung von Apparaten zur Prüfung des Entflammungs-punktes von Petroleum, beschäftigt. Als kurze Zeit darauf der durch seine Aufsehen erregenden bakteriologischen Arbeiten schnell bekannt gewordene Kreisphysikus Robert Koch aus Wollstein als Regierungsrat in das Gesundheitsamt berufen wurde, bat Loeffler, der die Tragweite der Kochschen Forschungsarbeiten richtig erkannte, diesem zugewiesen zu werden, und fand so, mit Gaffky der erste Schüler und Mit-arbeiter Kochs, in frühem Lebensalter das Feld, auf dem er so große Erfolge erreichen konnte. Einige Jahre darauf als Stabsarzt an das militärärztliche Bildungsinstitut kommandiert, dann Leiter des Laboratoriums in einem großen Berliner Garnisonlazarett, habilitierte sich Loeffler 1886 als Privat-dozent für Hygiene in Berlin, trug sich eine Zeitlang mit dem Gedanken, in die Medizinalbeamtenlaufbahn überzugehen, er-hielt dann aber im Herbst 1888 einen Ruf auf den neu er-richteten Lehrstuhl für Hygiene zu Greifswald und blieb in dieser Stellung volle 25 Jahre, obwohl sich ihm zweimal die Möglichkeit bot, anderwärts eine akademische Tätigkeit zu übernehmen. Mit Freuden folgte er dagegen im Herbst 1913 der Berufung zum Direktor des Instituts für Infektionskrank-heiten Robert Koch zu Berlin, zu der Stätte, an der sein großer und geliebter Meister Koch viele Jahre gearbeitet, und

an der Gaffky als erster Nachfolger Kochs der Tradition des Meisters getreu fortgewirkt hatte.

Die Reihe von wissenschaftlichen Abhandlungen, die Loeffler im Laufe seiner 35 Jahre bakteriologisch-hygienischer Forschung — wie Robert Koch übrigens ein Feind von Vielschreiberei und nur ausgereifte, in sich abgeschlossene Untersuchungen bekanntgebend — veröffentlicht hat, soll hier nicht in ganzem Umfange wiedergegeben werden. Nur die wichtigsten Ergebnisse seiner Lebensarbeit seien kurz zusammengestellt.

Da ist als folgenreichste seiner zahlreichen Entdeckungen vor allem zu nennen der Nachweis des Diphtheriebacillus als Erregers der Diphtherie im Jahre 1884, dem sich 1888 die gleichzeitig mit Roux und Yersin gemachte Beobachtung anschloß, daß der Diphtheriebacillus ein lösliches Gift in sein Kulturmedium abgibt. Durch diese beiden Feststellungen waren die Grundlagen geschaffen, auf denen fußend dann Behring seine glänzende Entdeckung der Diphtherieantoxinbildung im Tierkörper aufbauen konnte, die wiederum zur Herstellung des Diphtherieheilserums und zu der so erfolgreichen Niederdrückung der Sterblichkeit an der Diphtherie führte.

Schon die Entdeckung des Diphtherieerregers allein würde genügen, Loefflers Namen unsterblich zu machen. Ihr reißen sich aber weiter an die Auffindung der Erreger der Rotzkrankheit 1882 und mehrerer, bis dahin klinisch und ätiologisch nicht klar trennbarer Seuchen der Schweine, darunter des Schweinerotlaufs, Arbeiten, die für die heute fein ausgebildeten Verfahren zur Erkennung und Bekämpfung dieser Krankheiten den Ausgangspunkt gebildet haben.

Ein seuchenhaftes Sterben unter den Mäusebeständen seines Instituts im Jahre 1891 ließ Loeffler als Ursache den *Bacillus typhi murium* nachweisen. Es ist ein Zeichen seines praktischen Blickes, daß er sogleich inne wurde, wie dieser ihm zufällig in die Hände geratene Erreger einer Mauseuche zur Bekämpfung der oft so verheerend für die Landwirtschaft auftretenden Mauseplage Verwendung finden könnte. Es glückte Loeffler, im Jahre 1892 mittels seines *Bacillus* einen großen Teil der Getreideernte in Thessalien vor der Vertilgung durch Mäuse zu retten, und ebenso hat seitdem

der Bacillus in zahllosen Fällen auf deutschen Aeckern seinen Nutzen in der Vernichtung der Mäuse bewährt.

Lange Jahre hat sich Loeffler, zum Teil in Gemeinschaft mit hervorragenden Mitarbeitern, wie Frosch und Uhlenhuth, mit der Ausfindigmachung eines praktisch brauchbaren Immunisierungsverfahrens gegen die Maul- und Klauenseuche beschäftigt. Es gelang ihm, auch diese sehr schwierige Frage im Prinzip zu lösen, indem er zu Methoden gelangte, die das erstrebte Ziel sicher erreichen lassen, während allerdings ihre praktische Verwendbarkeit in Anbetracht ihrer Kostspieligkeit im Verhältnis zum Werte der zu rettenden Objekte noch Gegenstand der Erörterung ist. Als wissenschaftlich außerordentlich wichtiges Ergebnis aber entsprang diesen Untersuchungen zugleich der Nachweis, daß es Krankheitserreger von einer Kleinheit gibt, die sie für unsere heute verfügbaren optischen Hilfsmittel unerkennbar macht; das erste Beispiel der jetzt schon umfangreichen Gruppe der filtrierbaren Virusarten war mit dem Erreger der Maul- und Klauenseuche gefunden.

Zahlreich sind die Bereicherungen der bakteriologischen Technik, die wir Loeffler zu verdanken haben. Hier sei nur erinnert an die nach ihm benannte alkalische Methylenblaulösung, an die vielen besonderen Färbemethoden für Bakterien, an deren Ausgestaltung er mit seltener Geschicklichkeit und unermüdlicher Ausdauer unausgesetzt gearbeitet hat, an sein 1890 veröffentlichtes Verfahren der Geißelfärbung für Bakterien, das erste allgemein brauchbare dieser Art, an sein Malachitgrünverfahren zur elektiven Züchtung der Typhusbacillen, aus dem ein jetzt in allen bakteriologischen Laboratorien benutztes Anreicherungsverfahren für diese Bakterien bei der Züchtung aus Stuhlproben sich entwickelt hat.

Die Grundzüge eines rationellen Desinfektionswesens hat Loeffler zusammen mit Koch und Gaffky in einer allgemein bekannten Arbeit aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt geschaffen. Aus den Jahren seiner dortigen Tätigkeit stammt auch eine ausgezeichnete Arbeit über Immunität, die, noch heute trotz aller Fortschritte gerade auf diesem Gebiete sehr lesenswert, grundlegende Fragen, wie z. B. die der Immunitätsvererbung, der unterschiedlichen Empfänglichkeit ver-

schiedener, einander nahestehender Tierspecies, der lokalen und allgemeinen Immunität des Tierkörpers, behandelt.

Von Werken Loefflers über größere Wissensgebiete ist neben einer Abhandlung über das Wasser und die Mikroorganismen in Weyls Handbuch der Hygiene und einer zusammenfassenden Arbeit über die Malaria in der Deutschen Klinik von Leyden und Klemperer zu nennen sein Buch über die geschichtliche Entwicklung der Lehre von den Bakterien, von dem 1887 der erste Teil, etwa bis zum eigenen Eintritt Loefflers in die bakteriologische Forschung reichend, erschienen ist. Wer dieses auf gründlichstem Quellenstudium fußende Werk kennt, kann nur bedauern, daß es ohne die Fortsetzung bis in die neueste Zeit geblieben ist, deren Ausarbeitung Loeffler sich immer als letzte Aufgabe seines Schaffens in Aussicht genommen hatte.

Die unantastbare Richtigkeit jeder Zeile, die Loeffler geschrieben hat, ist der beste Beweis für die Gründlichkeit seiner Arbeit. Ein geborener Optimist in seiner ganzen Lebensauffassung, war er bei der wissenschaftlichen Arbeit doch von dem Skeptizismus beseelt, der zu der unentbehrlichen Peinlichkeit der Forschung führt. Mit unermüdlicher Geduld konnte er die gleiche Arbeit, und schien sie noch so aussichtslos, immer und immer wieder beginnen, um doch vielleicht der Hindernisse Herr zu werden. So hat er jahrzehntelang über Tuberkuloseimmunisierung gearbeitet, nie aber eine Zeile veröffentlicht, weil ihm seine Ergebnisse noch nicht schlüssig schienen.

Streng gegen sich selbst in den Anforderungen an seine Arbeit, war Loeffler den Leistungen anderer gegenüber ein stets milder, mit Anerkennung nie geizender Beurteiler, seinen Schülern im Laboratorium ein anregender, immer freundlicher Lehrer. Eine Kraftnatur auch in körperlicher Beziehung, liebte er es, nach außen hin ein manchmal etwas derb und raub anmutendes Wesen zur Schau zu tragen, das aber seinem durchaus lebenswürdigen, ja gegen Hilfe Begehrende manchmal sogar zu weichem Charakter tatsächlich fremd war. Für äußere Anerkennungen, die ihm in reichem Maße zuteil geworden sind — er war mit Orden, namentlich ausländischen, reich bedacht, Ehrendoktor von Gießen und Aberdeen, Ehren-

bürger der Stadt Greifswald — war er nicht unempfänglich. Bei allen seinen Erfolgen aber blieb er ein Mann von größter Anspruchslosigkeit und Bescheidenheit im Auftreten. Er gewann im Augenblick alle Herzen und hatte wohl kaum einen wirklichen Feind.

Als der Krieg im Herbst 1914 ausbrach, ging Loeffler, der sich immer gern als Militärarzt fühlte, sogleich in der Stellung eines Generalarztes und konsultierenden Hygienikers einer Armee mit ins Feld, ebenso kraftvoll und begeistert, wie als 18-jähriger Jüngling 44 Jahre zuvor. Die ersten, sich schnell verschlimmernden Zeichen einer ernsten Erkrankung im Dezember 1914 wollte er nicht sehen und blieb im Dienste, bis Ende Januar sein Zustand ihn zur Heimkehr zwang. Von seinem Leiden konnte ihn die Kunst des Chirurgen nicht befreien. Nach langem Kampfe erlag er, bis in die letzten Tage seines Lebens, auch in seinen Phantasien, noch von wissenschaftlichen Fragen, ihn beschäftigenden Problemen redend. Zu früh starb er, den in seiner strotzenden Gesundheit noch wenig Monate zuvor niemand dem Tode nahe glauben konnte, und von dem noch manche treffliche Leistung zu erwarten gewesen wäre.

Dankbarkeit und ein ehrendes Gedächtnis aber muß ihm bewahren die Bakteriologie, deren erster Meister einer er war, die Landwirtschaft und Tierzucht, der er so manchen unschätzbaren Dienst durch seine Forschungen geleistet hat, das Vaterland, das auf den tüchtigen Mann mit Stolz blicken kann, die ganze Menschheit, der er die Befreiung von einer der schwersten kindermordenden Seuchen, der Diphtherie, angebahnt hat.

Dem Andenken Paul Ehrlichs.
(14. März 1854 — 20. August 1915.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Der große, unersetzliche Verlust, den das Jahr 1915 durch das Hinscheiden von Paul Ehrlich der gesamten medizinischen Wissenschaft gebracht hat, traf auch die Zeitschrift



für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie in besonders harter Weise. Mit Stolz gepaart ist der Schmerz, den wir über das Fehlen dieses Fürsten der Wissenschaft, des Führers experimentell-medizinischer Forschung empfinden. Denn gerade Immunitätsforschung und experimentelle Therapie sind diejenigen Gebiete, denen das Wirken Paul Ehrlichs

in den letzten 5 Lustren seines Lebens galt, und wohl in jedem Heft dieser Zeitschrift verspürt man den Hauch seines Geistes!

In tiefster Trauer haben wir seinen Namen unter denjenigen, die ihre dankenswerte Mitwirkung dieser Zeitschrift zuteil werden ließen, schwinden sehen. Voller Dankbarkeit gedenken wir des Interesses, das er der Zeitschrift seit ihrer Begründung zuteil werden ließ; unter Paul Ehrlichs Aegide ist die Zeitschrift für Immunitätsforschung zum ersten Mal erschienen.

Es erübrigt sich an dieser Stelle, ausführlich das Werk zu schildern, das Immunitätsforschung und experimentelle Therapie Paul Ehrlich verdanken ¹⁾. Sein Anteil und sein Einfluß haben diesen jungen Gebieten medizinisch-wissenschaftlicher Forschung charakteristisches Gepräge verliehen. Das Denken folgt bewußt oder unbewußt den von Paul Ehrlich gewiesenen Bahnen.

Die Immunitätsforschung verdankt Paul Ehrlich die exakte wissenschaftliche Methode. Durch ihn ist schon in seinen ersten Arbeiten, die der Erforschung der Immunitätsprobleme galten, das zahlenmäßige Moment in die biologische Analyse der Erscheinungen hineingetragen worden, durch die Entdeckung und Begründung der Variabilität der Naturkraft, deren Ausdruck die Immunität ist. Es war die Einführung eines Prinzips, deren Bedeutsamkeit man heute leicht zu unterschätzen geneigt ist. Denn die quantitative, zahlenmäßige Betrachtungsweise ist seither so sehr zur unbedingten Grundlage jeder Forschung in der Immunitätslehre geworden, daß sie zu den selbstverständlichen Axiomen zu gehören scheint. Aber erst durch ihre Einführung ergaben sich die Möglichkeiten einer zielbewußten Immunitätssteigerung und damit rationelle Grundsätze für aktive Immunisierung und Serumtherapie.

Nicht besonders hervorgehoben zu werden braucht es hier, wie E. v. Behrings bahnbrechende Entdeckung der Antitoxine dasjenige Moment wurde, das den Ausgangspunkt zu Ehrlichs grundlegenden Arbeiten über die Antikörper bildete.

1) Mit einer Würdigung von Ehrlichs Wirken durch A. von Wassermann ist der 21. Band dieser Zeitschrift anläßlich des 60. Geburtstages des Meisters (1914) in festlicher Freude eingeleitet worden.

Einen vollkommenen Ueberblick über Ehrlichs Werk gewährt die Festschrift zu seinem 60. Geburtstag: „Paul Ehrlich, eine Darstellung seines wissenschaftlichen Wirkens.“ Jena, G. Fischer, 1914.

In Paul Ehrlichs Denken vereinigte sich die Erfassung des Problems vom chemisch-biologischen und pharmakologisch-therapeutischen Gesichtspunkte aus. Die Antikörper erschienen ihm in der Seitenkettentheorie als das ideale Produkt aus der Werkstatt der Natur, die das von ihm gesuchte monotrope distributive Prinzip darstellten und ihn reizten, mit frischem Mut in der Chemotherapie dem Wirken der Natur im chemischen Laboratorium nahe zu kommen. Mit seltenem experimentellem und organisatorischem Geschick hat sich Paul Ehrlich von den Gedanken, mit denen er herrschte, leiten lassen. Die Experimentalanalyse der Toxin- und Antitoxinwirkung, die Einführung des Reagenzglasversuches als Basis für den weiteren Fortschritt der Antikörperlehre, die Begründung des Wirkungsmechanismus der cytolytischen Antisera, die Lehre von den Rezeptoren, sie sind nur Beispiele aus der Kette geistvoll ersonnener Versuchsanlagen und grundlegender Ergebnisse, die dem Aufstieg der Wissenschaft Führer wurden.

Nicht minder fruchtbar war die Formgebung, die das Immunitätsproblem in der Geschwulstforschung durch Paul Ehrlich erfuhr. Auch hier bewundern wir neben den Ergebnissen die Ergründung und Einführung großzügiger Arbeitsweise. Methodik und Organisation, die Grundlagen experimentell-wissenschaftlicher Forschung, haben in Paul Ehrlich einen mustergültigen Lenker gefunden. Das erscheint vielleicht am deutlichsten in der Chemotherapie, in der ihn die ungewöhnliche Vereinigung der Beherrschung chemischer und biologischer Wissenschaft zum erfolgekrönten Pfadfinder werden ließ.

• In der experimentellen Chemotherapie, dem von ihm als Wissenschaft begründeten Gebiet, sahen wir Ehrlich in beispielloser Kraft die verschiedensten Zweige der Wissenschaft, denen er Führer war, verschmelzen. Der große Chemiker, der Meister der Immunitätsforschung, der Erforscher biologisch-therapeutischer Prinzipien, sie alle arbeiten hier in einer Person zusammen, dem einheitlich gesteckten Ziele entgegen. Und so sind für alle diese Wissenschaften Früchte gereift. Chemie erntete Bereicherung der Farbstoffkenntnisse, die Lehre von den aromatischen Arsenverbindungen, für die Immunitätsforschung entstand das reizvolle Gebiet der Serumfestigkeit, in weiterem Sinne auch der Arzneifestigkeit, für die Pharma-

kologie außer dem Erwerb wirksamster Waffen im Kampf gegen die Infektionskrankheiten richtunggebender Einfluß.

Was aber Paul Ehrlich, abgesehen von dem reichen Ergebnis, das wir seiner Forschung danken, vor allem hervorhebt, ist der durchdringende Verstand, die künstlerische Phantasie, mit denen er die Erscheinungen meisterhaft und glücklich erfaßte. Er besaß die Kraft der Intuition und wußte aus dem Ergebnis das Programm zu entwickeln, das Scharen seiner Fachgenossen der Wegweiser für die experimentelle Arbeit wurde. In seinem berühmten Frühwerk: „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus“ leitete Paul Ehrlich den theoretischen Teil „Schlüsse und Betrachtungen“ mit den Worten ein:

„Ich hätte mich wohl begnügen können, einfach die nackten Resultate meiner Beobachtungen mitzuteilen und auf eine Diskussion vollkommen verzichten dürfen. Wenn ich diese Resignation nicht übe, und statt mich auf das Tatsächliche zu beschränken, auch von den Ansichten und Spekulationen, die sich mir im Laufe einer langen Untersuchungsreihe von selbst aufdrängten, das mir als das wesentlichst erscheinende mitteile, so glaube ich zu solchem Handeln darin Rechtfertigung zu finden, daß ein Fortschritt in der Erkenntnis nur vom theoretischen Gesichtspunkte aus erfolgen kann, und daß somit eine selbst verfehlte Theorie immer noch fruchtbringender wirken kann, als rohe Empirie, die ohne Erklärungsversuch die Tatsachen registriert.“

Und gerade das Theoretische an Ehrlichs Arbeit, freilich den Tatsachen angepaßt, oft nur ihr fruchtbarer geistiger Ausdruck, hat jene kraftvolle Energie ausgeübt, mit der er auf die in dieser Zeitschrift vertretenen Forschungsgebiete gewirkt hat. Sein Werk hat der Wissenschaft reichen Land-erwerb gebracht. Der Geist, der es beherrschte, und die geistige Kultur, die er den eroberten Gebieten angedeihen ließ, leben aber fort. Sein Denken ist zu einem notwendigen Bestandteil der Forschung geworden, und auch die kommenden Geschlechter werden sich dort, wo er wirkte, vor seinem Geiste neigen müssen mit bewunderndem Staunen über sein großes Werk.

H. Sachs (Frankfurt a. M.).

Dem Andenken Paul Heinrich Römers.

19. Mai 1876—30. März 1916.

Ein Nachruf.

Von **E. Friedberger**-Greifswald.

Mit 1 Abbildung im Text.

Den deutschen Forschern, die das Wesen des Fleckfiebers zu ergründen strebten und dabei selbst den Tod fanden, ist



nun der besten und edelsten einer gefolgt. Paul Heinrich Römer, o. ö. Professor der Hygiene und Direktor des Hygienischen Instituts in Halle, gehörte zu den bedeutendsten und liebenswürdigsten Vertretern seines Faches.

Mitten aus voller Schaffenskraft, aus einer Fülle von Plänen wurde er abberufen. Unerbittlich wurde seinem rastlosen Streben, seiner unermüdlichen Arbeit ein Ziel gesetzt. Zu früh für seine Familie, zu früh für seine Freunde und Kollegen, zu früh für seine Wissenschaft, die ihm so viel verdankt und noch so unendlich viel mehr von ihm erwarten durfte, ruht er nun in russischer Erde.

Er starb nicht wie die großen Forscher, deren Leben die vorausgehenden Blätter gewidmet sind, am Abend seines Lebens, nachdem sein Werk vollendet war; reiche Hoffnungen sind mit ihm unerfüllt zu Grabe getragen worden.

Als der große Krieg begann, zog er freudig mit seinem Regiment als Stabsarzt nach dem Osten; zunächst war er Bataillonsarzt; dann Korpshygieniker. Von Begeisterung be-seelt, mit seinem gereiften Können und seinem ungewöhnlich ausgebildeten Pflichtgefühl hat er im Feld viel Gutes geschaffen. Seine unermüdliche Arbeit und Fürsorge für die Gesundheit der Truppen fand Anerkennung in der Verleihung des Eisernen Kreuzes I. Klasse. Gelegentlich seiner Berufung nach Halle erhielt er einen längeren Urlaub, aber kurz vor Weihnachten 1915 eilte er schon wieder hinaus, weiter sorgend und arbeitend, bis er bei Untersuchungen über das Fleckfieber und bei seinen Bestrebungen, die Krankheit von unseren Truppen fernzuhalten, selbst den Keim der mörderischen Seuche in sich aufnahm.

Der Gefährlichkeit seines Zustandes sich von Anfang an und bis zuletzt voll bewußt, nahm er brieflich Abschied von seinem einzigen Töchterchen und der Gattin Luise geb. Bene, die ihm im Leben nicht nur, sondern auch bei der Arbeit allzeit eine treue, verständnisvolle und aufopfernde Gefährtin gewesen war.

Am 30. März dieses Jahres verschied er. Die Trauer um den seltenen, geistig hochbedeutenden Forscher war auch an der Front eine allgemeine.

„Wie er auch im Felde ganz seinen Mann stand, das haben die vielen herzlichen Beileidsschreiben vom Prinzen Leopold von Bayern bis zu der schlichten Krankenschwester, die unter dem allzeit begeisterten und begeisternden Führer arbeitete, voll bewiesen“, heißt es in der Chronik der Uni-

versität Halle vom Jahre 1915/16. Mehr noch als um den bedeutenden Gelehrten trauern die, die ihn näher gekannt haben, um den edlen, vornehmen und aufrechten Menschen.

Ich will versuchen, in dieser Zeitschrift, der der Verstorbene seit ihrer Begründung als Mitherausgeber und ständiger treuer Mitarbeiter angehörte, sein Lebensbild noch einmal zu zeichnen, ihn zu schildern als Forscher, als Lehrer, als Menschen.

* * *

Paul Römer war geboren in Kirchhain in Kurhessen am 19. Mai 1876 als Sohn des weit über seinen Wirkungsort bekannten und hochgeschätzten praktischen Arztes Dr. Hermann Römer und dessen im Jahre 1896 verstorbenen Ehefrau Luise geb. Klöffter.

Er besuchte die Volksschule seiner Vaterstadt und von 1885 ab das Kgl. Gymnasium in Marburg. Bei seiner wissenschaftlichen Ausbildung ist er im wesentlichen der Hochschule seiner kurhessischen Heimat treu geblieben, bis auf ein Semester in Kiel, wo er gleichzeitig seiner Militärpflicht genügte, und ein Semester in Würzburg. Im Wintersemester 1898/99 bestand er in Marburg das medizinische Staatsexamen und ebenda das Examen rigorosum. Von April bis Oktober 1899 diente er als einjährig-freiwilliger Arzt in Marburg und wurde im Oktober Assistent an der dortigen Medizinischen Klinik.

Bald wurde v. Behring, der damals so viele der tüchtigsten jüngeren Kräfte aus dem In- und Ausland an sich zog, auf den jungen vielversprechenden Arzt aufmerksam, und vor die Entscheidung gestellt, die wohl an jeden Arzt, der zugleich sich als Naturforscher fühlt, einmal herantritt, wählte Römer die theoretische Wissenschaft und wurde Assistent von v. Behring, dessen bedeutendster Schüler er bald war. Auch zeitlich hat er am längsten unter dem großen Lehrer gearbeitet.

Gelegentlich seines 60. Geburtstages hat Exzellenz v. Behring in geistvoller Heranziehung der bekannten Fabel Aesops darauf hingewiesen, daß er schließlich nur einen wissenschaftlichen Sprößling habe, „aber es ist ein Löwe“.

Fast 15 Jahre wirkte Römer am Behring'schen Institut; dann ging er einige Zeit an das Institut für Tropenhygiene in Hamburg und bald zu Flügge, um von dort aus nach Jahresfrist zum Sommersemester 1914 als Nachfolger Löfflers das Ordinariat für Hygiene in Greifswald zu übernehmen. Nach dem ersten Kriegsjahr bereits folgte er einem Ruf nach Halle.

Seine experimentellen Arbeiten, deren Zahl weit über 100 beträgt, umfassen die verschiedensten Gebiete der Hygiene, Bakteriologie, Immunitätslehre und experimentellen Therapie. Vorwiegend sind die Krankheiten behandelt, mit deren Erforschung sich zugleich sein Lehrer v. Behring beschäftigt hat. Doch geht auch hier Römer im wesentlichen seine eigenen Wege und hat meist Selbständiges und Bedeutsames geschaffen.

In seiner Inauguraldissertation „Beiträge zur Auffassung des Faserverlaufs im Gehirn, auf Grund des Studiums von Kindergehirnen“ gibt er bereits eine formvollendete kritische Darstellung des schwierigen Gegenstandes mit wichtigen eigenen Befunden, die das Niveau der üblichen Dissertationen weit überragt.

Seine erste experimentelle Arbeit auf dem eigentlichen Forschungsgebiet beschäftigt sich mit der intrauterinen und extrauterinen Antitoxinübertragung auf das Kind, ein Problem, das noch in zahlreichen weiteren Veröffentlichungen behandelt und geklärt wurde. Er beobachtet zunächst die wichtige Tatsache, daß eine intrauterine Antikörperübertragung unter physiologischen Bedingungen (arteigenes Serum!) nicht statthat, daß vielmehr nur bei ganz jungen Tieren, bei denen die Darm-schleimhaut noch keinen Schleimüberzug besitzt (Disse), lediglich eine Resorption der mit der Muttermilch aufgenommenen Schutzstoffe vom Darm aus erfolgt. Diese Versuche führten zu weiteren wichtigen Untersuchungen über den Uebergang der Schutzstoffe in die Milch und deren Resorption durch die Milch. Römer konnte auf Grund zum Teil gemeinschaftlicher Versuche mit Much zeigen, daß die Passage durch den Tierkörper artfremdes antitoxisches Serum derart verändert, daß es vom Säugling der betreffenden Species in der Milch erheblich besser resorbiert wird („indirekte Fütterung“) als etwa nativ der betreffenden Milch zugesetztes („direkte Fütterung“). Weiter zeigte dann Römer an einem

Pferde und Fohlen, daß auch homologes Milchantitoxin besser resorbiert wird als homologes Serumantitoxin. Die zahlreichen Versuche über Antikörperübertragung haben literarischen Niederschlag gefunden in einem gründlichen kritischen Aufsatz im Handbuch der Milchkunde von Sommerfeld. Sehr anregend sind sie ferner geschildert in einem Vortrag „über Kuhmilchgewinnung und Kuhmilchvertrieb, mit besonderer Berücksichtigung der Uebertragungsgefahr von Krankheiten durch die Kuhmilch“, gehalten in einem landwirtschaftlichen Vortragskursus zu Darmstadt im Jahre 1906.

Diese Untersuchungen leiteten dann wohl über zu weiteren eingehenden hygienischen Studien über die Milch. Durch ein besonderes Verfahren, Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd und dessen nachherige Entfernung durch Katalase, war Römer wie De Waele, Sugg und Vandevelde bestrebt, eine Milch zur Ernährung der Kinder zu erzielen, die frei von lebenden Tuberkelbacillen und anderen Bakterien war, aber im übrigen die genuinen Eigenschaften der Rohmilch bewahrt hatte. Nebenbeobachtungen an dieser „Perhydrasemilch“ führten dann zu weiteren Studien über den Einfluß des Tageslichtes, sowie des ultravioletten Lichtes auf die Zersetzung der Milch und deren hygienische Bedeutung, zu Studien über die Schardingersche Reaktion und zu anderen eigenen Arbeiten und Arbeiten der Schüler über Milchsterilisierung.

Grundlegend sind Römers Veröffentlichungen über eines der schwierigsten Probleme der Immunitätslehre und experimentellen Therapie, über das Diphtheriegift und das Tetanusgift. Er studierte die eigenartigen Veränderungen des Tetanusgiftes unter dem Einfluß galvanischer Ströme und fand, daß man unter geeigneten Versuchsbedingungen durch schwache galvanische Ströme den toxischen Effekt kolloidal gelöster Tetanusgiftmoleküle erhöhen kann, während unvollkommen neutralisierte Toxin-Antitoxingemische in ihrer Giftigkeit vermindert werden.

In Gemeinschaft mit Much und Siebert stellte er ultramikroskopische Untersuchungen mit Serum und Molken an. Dabei wurde im Anschluß an die vorerwähnten Experimente beobachtet, daß bei Behandlung von Laktoserum und Blutserum mit schwachen galvanischen Strömen die bakterizide und agglutinierende Fähigkeit an der Anodenmolke resp. dem

Anodenserum zunimmt, die zugleich den höchsten „Ultrawert“ (Zahl der im Ultraapparat sichtbaren Teilchen) zeigen.

Weiter verdanken wir Römer die wichtige Entdeckung normaler Tetanusantitoxine im Blut älterer Rinder, für die er nachher eine befriedigende Erklärung im regelmäßigen Vorkommen des Tetanusbacillus im Darm solcher Tiere fand.

Die Lehre vom Diphtheriegift hat er durch ausgezeichnete Arbeiten über den Zusammenhang von Toxon und Toxin gefördert und auf diesem Gebiet noch weiterhin in der jüngsten Zeit in einer bedeutsamen Arbeit über die Behandlung und das Wesen der Diphtherielähmung Ergebnisse beigebracht, die auch für die Praxis wichtig werden dürften. Es wurde der Einfluß des Diphtherieheilserums auf die Lähmung und die Grenze seiner Wirksamkeit untersucht. Römer bezweifelt hier die Existenz eines besonderen Lähmungsgiftes im Sinne von Ehrlich, neben dem akut wirkenden Diphtheriegift.

Nicht minder wichtig ist seine Methode der Diphtherieserumbewertung, die sich auf die von ihm begründete Methode zum Nachweis kleiner Mengen von Diphtheriegift bei intrakutaner Injektion stützt. Das Verfahren ermöglicht es, noch $\frac{1}{40000}$ I.-E. mit Sicherheit nachzuweisen.

Versuche an Schafen mit passiver Immunisierung durch Diphtherie und Tetanusantitoxin vom Pferd zeigten, daß hier die passiv zugeführten heterologen Antikörper keineswegs im allgemeinen so schnell ausgeschieden werden, wie man das bisher auf Grund von Versuchen an anderen Tierspecies und mit anderen Seris annahm. Das durch die Präzipitinreaktion nachweisbare Pferdeeiweiß verschwindet dagegen viel schneller. Ein Verlust an Antitoxin erfolgt beim Meer-schweinchen nach Versuchen aus der jüngsten Zeit im anaphylaktischen Shock.

Mit großem Geschick und reichem Erfolg bearbeitete Römer dann als einer der ersten die Aetiologie der bis dahin noch völlig unaufgeklärten Kinderlähmung. Er wies in zahlreichen gründlichen Versuchen die Möglichkeit der Weiterimpfung von Affen auf Affen nach, lieferte wichtige Beiträge zur Natur, Verbreitungsweise, Haltbarkeit des Virus und zur Immunität. Gelegentlich seiner Studien fand er auch eine bis

dahin unbekannte, der Kinderlähmung ähnliche Erkrankung des Meerschweinchens, eine für die experimentelle Forschung auf diesem Gebiet bedeutsame Entdeckung. Seine Arbeiten über Kinderlähmung wurden zusammengefaßt in einer umfangreichen, auch in das Englische übersetzten kritischen Monographie über diese Krankheit.

Neben einer Reihe rein hygienischer Veröffentlichungen, wie die über Formaldehyddesinfektion, über Trinkwasserversorgung von Marburg usw., dürfen dann als hauptsächlichstes Lebenswerk Römers seine bedeutenden bahnbrechenden Arbeiten über Tuberkulose gelten. Es kann hier nur das Wichtigste hervorgehoben werden. Außer seiner Mitarbeit an den Untersuchungen v. Behrings über das Tuberkulosevirus, das Tuberkulosegift, über die Bekämpfung der Rindertuberkulose sind bedeutsame Einzeluntersuchungen Römers zu nennen.

In seiner Habilitationsschrift „Ueber Tuberkelbacillensämme verschiedener Herkunft“ behandelt er auf breitester Grundlage und, wie es scheint, abschließend die Frage von der Identität der Rinder-, Menschen- und Hühnertuberkulose. Das Resultat stützt sich auf eingehende Untersuchung von Tuberkulosestämmen (Mensch, Rind, Huhn) hinsichtlich ihres morphologischen, kulturellen und tierexperimentellen Verhaltens.

Er weist darauf hin, daß die morphologischen und kulturellen Unterschiede zwischen Menschen- und Rindertuberkulose so inkonstant und ungleichmäßig sind, andererseits so viele Uebergänge vorhanden sind, daß ein Artunterschied nicht angenommen werden darf. Das gleiche gilt bezüglich der Virulenz.

Das Hauptargument für die Arteinheit sieht er in der auf Grund sorgfältiger quantitativer Tierversuche aufgestellten „Empfindlichkeitsskala“ im Verhalten gegenüber Tuberkulin und in den gegenseitigen Immunitätsbeziehungen.

Bei seinen weiteren Arbeiten über Tuberkulose beachtet er nicht etwa nur den Krankheitserreger, wie das leider von seiten mancher Bakteriologen allzu einseitig geschieht, sondern vor allem die Wechselbeziehungen zwischen Mikroorganismus und dem befallenen Makroorganismus.

Wichtige Beiträge verdanken wir ihm zur Frage der Schutzimpfung der Rinder. Von der Regierung nach Argentinien berufen, hat er dort erfolgreich seines Lehrers v. Behring und seine Methoden in die Praxis übertragen und in Vorträgen und Abhandlungen für die Verbreitung deutscher Wissenschaft gesorgt.

Wesentlich für unsere Auffassung über den Verlauf der Tuberkulose, speziell über die Entstehung der Lungenschwindsucht, waren seine Arbeiten über Tuberkulose-Immunität und -Ueberempfindlichkeit, deren engen Zusammenhang er richtig erkannte. Er hat die Tatsache der erhöhten Widerstandsfähigkeit des tuberkulösen Organismus gegen eine Neuanksteckung mit Tuberkelbacillen („additionelle Infektion“) im Tierversuch sowohl bei künstlicher wie natürlicher Infektion einwandfrei bewiesen und als Immunitätserscheinung gedeutet. Im Anschluß an diese Beobachtungen ist ihm zuerst experimentell beim Tier (Meerschweinchen, Schaf, Rind) auf Grund seiner geistvollen, wohlbegründeten Vorstellungen die regelmäßige Erzeugung der kavernösen Lungentuberkulose dadurch gelungen, daß er bei chronisch tuberkulösen und also partiell immunen Tieren eine massive Neuinfektion herbeiführte. Er faßt danach die Lungenschwindsucht unter Berücksichtigung der früheren Kindheitsinfektion auf als das Ergebnis einer Wechselwirkung zwischen einem schon tuberkulösen und dadurch relativ tuberkulose-immunen Organismus einerseits und einer schweren Reinfektion mit Tuberkulosevirus andererseits. Eine Bakteriendosis, die beim intakten Organismus eine akute Miliartuberkulose zur Folge hat, bedingt bei dem chronisch infizierten, also partiell immunen nur eine lokale Tuberkulose der Lunge. Dabei handelt es sich beim Menschen wohl seltener um eine von außen kommende „additionelle“ Infektion als um eine „metastasierende Autoinfektion“.

Schließlich verdanken wir ihm noch therapeutisch ein verbessertes Tuberkulinpräparat, das Tubolytin, und diagnostisch in der unabhängig von Mendel, Moussu und Mantoux gefundenen intrakutanen Tuberkulinreaktion eine Methode, die heute allgemein Anwendung findet. Er selbst hat die empfindliche intrakutane Tuberkulinreaktion als quantitatives

Verfahren zur Beurteilung der Prognose zunächst bei der experimentellen Meerschweinchentuberkulose, dann bei der Rindertuberkulose ausgearbeitet. Weiterhin hat die Methode in seiner Hand wichtige Ergebnisse gezeitigt über das Inkubationsstadium bei der experimentellen Tuberkulose.

Gerade in seinen Tuberkulosearbeiten faßt Römer das Problem der Bekämpfung nicht einseitig vom Standpunkt des Bakteriologen und des Immunitätsforschers auf, sondern verliert nie die allgemein-hygienischen Gesichtspunkte aus dem Auge, auf die er auch besonders in seinem Vortrage über „Tuberkulose und Wohnungsfrage“ eingeht.

In mehreren Beiträgen zum Handbuch der Methoden der Immunitätsforschung von Kraus-Levaditi hat er kritische Zusammenstellungen seiner eigenen und anderer Forschungen auf dem Gebiet der Tuberkulose gegeben.

* * *

Die kurze Aufzählung der wesentlichen Arbeiten Römers zeigt noch einmal, wie fruchtbar er als Forscher war, und auf wie verschiedenen Gebieten seines Spezialfaches er Bleibendes geschaffen hat. Eine Vielseitigkeit im landläufigen Sinn hat er freilich verschmäht. Es waren nicht sehr viele, aber gerade die schwierigsten Probleme seines Faches, an denen sein Forschermut, seine hohe Begabung und seine Arbeitskraft, gepaart mit unermüdlichem Fleiß, sich unausgesetzt betätigten. Zu diesen Problemen zog es ihn immer wieder hin. In solcher weisen Beschränkung zeigte er sich als wahrer Meister.

Ihm widerstrebte es, Fragen, die sozusagen bequem auf der Straße lagen, aufzugreifen und, gestützt auf mühselige experimentelle und geistige Arbeit anderer letzte Konsequenzen ziehend, billige Augenblickserfolge zu erringen.

Mit genialem Blick für das Wesentliche und mit reicher schöpferischer Phantasie ausgestattet, ging er an die Lösung seiner von ihm selbst gestellten wissenschaftlichen Probleme heran. Bei allem Reichtum an Ideen und wissenschaftlicher Initiative hat er dabei nie die experimentelle Ausarbeitung vernachlässigt, mit immer zahlreicheren Tierversuchen seine Anschauung zu stützen gesucht. Und doch war es ihm

2*

nicht um die Sammlung auch noch so exakt begründeter kleinster Tatsachen zu tun. Alle diese so mühselige Kleinarbeit galt der Aufdeckung größerer allgemeiner Gesetze, galt vor allem auch der praktischen Nutzanwendung, dem Endziele alles medizinischen Forschens. Jede seiner Arbeiten erscheint in sich vollendet. Alle tragen sie den Stempel der Originalität in der Idee und in der Ausarbeitung. Dank seinem klaren Verstande, seiner scharfen Logik sind sie streng kritisch an den Ergebnissen anderer, kritischer noch in der Deutung der eigenen Befunde.

Als echter Forscher hat er die neuen Fragen, die ja die Lösung einer jeden Frage wieder aufwirft, unermüdlich immer von neuem in Angriff genommen. Ihm war das Erreichte nie ein Ziel, sondern nur eine Etappe auf dem Wege zu weiterem Forschen.

Daß eine derartige gründliche und allein echt naturwissenschaftliche Bearbeitung der Probleme ihm von manchen Seiten den ungerechten Vorwurf zu großer Einseitigkeit eintrug, hat er wohl hier und da schmerzlich empfunden. Aber er ist seinem Prinzip treu geblieben — *multum non multa*.

Er besaß dafür die wahre Vielseitigkeit des Forschers, die sich darin äußert, die Probleme von möglichst vielen Seiten anzufassen. Er rang mit ihnen immer und immer wieder, und ließ nicht eher ab, als bis er eine Frage soweit geklärt hatte, als es dem gegenwärtigen Stand unserer Erkenntnis und des technischen Könnens entsprach. Nichts von den wertvollen Ergebnissen, die sein Schaffen gezeitigt hat, ist so Zufallserfolg — alles der Ausfluß zähen Fleißes einer immer nach vertiefter Erkenntnis, einer zu immer höheren Zielen hinstrebenden Arbeit.

In seiner wissenschaftlichen Produktion haben wir so eine stete und sichere Aufwärtsentwicklung. Sie erfüllt uns mit Dank für das, was er geleistet hat, und läßt uns nur mit Wehmut ahnen, was die Forschung noch von ihm zu erwarten gehabt hätte. Er war ein Klassiker der Wissenschaft im Sinne des Ostwaldschen Einteilungsprinzips.

Wie im Leben, so strebte er in der Wissenschaft nur nach Erkenntnis und Wahrheit — ein deutscher Forscher nach dem unvergänglichen Wort Machs: „Deutsch sein heißt, eine Sache um ihrer selbst willen tun.“

Seine Arbeiten zeichnen sich durchgehend durch die präzise Fragestellung, die exakte Methodik und die Gründlichkeit der Versuche aus. Das, was im Geist lange ausgearbeitet und gereift war, wurde dann häufig der Gattin, die seinem wissenschaftlichen Wirken und Streben ein allzeit förderndes feines Verständnis entgegenbrachte, diktiert.

„Goethe sagte mir einmal“, berichtet Schopenhauer, „daß, wenn er eine Seite im Kant lese, ihm zumute würde, als träte er in ein helles Zimmer.“ Man wird nicht gerade allzu oft bei der Lektüre der Arbeiten unseres Forschungsgebietes an diesen Ausspruch erinnert. Aber in den Veröffentlichungen Römers fällt eine besondere Klarheit und Durchleuchtung des oft schwierigen und verwickelten Gegenstandes angenehm auf. Die Darstellungsweise ist dabei wie übrigens auch sein Vortrag außerordentlich formgewandt und flüssig, häufig mit anschaulichen, überaus glücklich gewählten originellen Vergleichen und Bildern geschmückt, nicht selten von feinem Humor durchweht.

Dem geistigen Eigentum anderer läßt er da, wo sich die Forschungen mit den seinen berührten, die weitgehendste Gerechtigkeit und ehrliche Anerkennung angedeihen, die seiner vornehmen Gesinnung entsprang. Sein vortrefflicher Verstand befähigte ihn, die Arbeit anderer richtig zu würdigen, und oft nicht ohne Kritik, aber immer gerecht und sachlich zu beurteilen. Seinem vornehmen Wesen entsprach auch die feine Art der Polemik mit wissenschaftlich Andersdenkenden; niemals, so ungerecht und schroff er auch manchmal angegriffen wurde, war er in seiner Entgegnung verletzend, stets stand ihm die Sache im Vordergrund. Schlagfertig und unheimlich gewandt, oft von feiner Ironie, aber auch da nie aggressiv, sah man ihn auch in der Aussprache auf Kongressen. So hat er wohl Gegner, nie aber persönliche Feinde gehabt.

Das Beste hat Römer uns in seinen Tuberkulose-Arbeiten gegeben. Auf diesem schwierigen Gebiet waren ihm keine Experimente zu viel, und immer wieder hat er seine Anschauungen durch Versuche zu stützen und weiter auszubauen gesucht. Die Ergebnisse sind lange nicht genügend in weiteren ärztlichen Kreisen bekannt geworden; denn seine strenge Sachlichkeit, frei von allen persönlichen Beweggründen, veranlaßte ihn nur selten, mit seinen Veröffentlichungen aus dem engen Gebiet der eigentlichen Fachpresse hinauszugehen.

Mit der Bescheidenheit, die seinem Wesen eigen war und die wohl auch seiner strengen Selbstkritik entsprach, hat er sich noch 1913 über seine Tuberkulosestudien wie folgt geäußert: „Was ich aus meinen Arbeiten als neue Beiträge zu der Frage der Tuberkulose-Immunität hier berichten konnte, ist, wie ich mir bewußt bin, recht bescheiden; entbehrt vor allem vorläufig noch jeder praktischen, d. h. praktisch-therapeutischen Konsequenzen. Indes der Weg zu dem Endziel: Verwirklichung einer wirksamen Schutzimpfung gegen die Tuberkulose oder Auffindung eines nicht versagenden Heilmittels — kann nicht an einem Tage gebaut werden. Wenn dem Inhalt meiner Arbeiten für diesen Wegbau nur der Wert eines Sandkorns zukommt, bleibt ihnen dieser Wert und so ist der Zweck vollauf erreicht.“

Freilich sein Bau ist Torso geblieben, und doch erkennen wir an den Fundamenten, die er gegründet, und an dem, was er bereits aufgerichtet, daß er vielleicht den stolzen Bau einst vollendet und gekrönt hätte, mit der langersehnten spezifischen Heilung der Tuberkulose, von der wir ja im Grunde fast noch so fern sind wie seit den Tagen der Entdeckung des Erregers.

Römer war kein abenteuernder Goldsucher im Neuland der Wissenschaft; er war ein Landmann, der unverdrossen zunächst den Boden bestellte mit eisernem Fleiß, der dann säte, und wußte, daß allein so mit Sicherheit die goldene Frucht gedieh. Er hat seine Saat noch nicht einmal heranwachsen sehen, die sicher reiche Ernte gebracht hätte. Das ist sein tragisches Geschick.

Aber ist er selbst auch dahin, von dem, was er geschaffen, wird nichts verloren sein. Mögen auch die Theorien sich wandeln, die festgegründeten Tatsachen, um die P. H. Römer die Tuberkulose-Lehre bereichert hat, werden bleiben und fruchtbar weiterwirken, bis das Endziel erreicht ist. Auch dann wird man stets seiner als eines tapferen Pioniers der Wissenschaft gedenken, den das Geschick uns entriß, ehe er von dem von ihm begründeten festen Pfeiler aus die Brücke hinüberschlagen konnte zu dem anderen Ufer, auf dem das ersehnte Ziel winkt.

* * *

Römers wissenschaftliche Bedeutung und sein Einfluß sind nicht mit seiner so fruchtbaren Forschertätigkeit erschöpft. Mit ihr hängt seine Tätigkeit als akademischer Lehrer eng zusammen. Nur kurze Zeit war es ihm beschieden, sie so zu entfalten, wie er es immer herbeigesehnt hatte. Aber schon seine Vorlesungen in Marburg, und die Vorlesungen, in denen er in Berlin zeitweilig seinen Lehrer Flügge vertrat, zeigten seine eminente didaktische Begabung.

Ein vortrefflicher Redner, mußte er bei seiner klaren Erfassung aller wissenschaftlichen Fragen und bei der Gründlichkeit und dem Pflichtgefühl, mit dem er an alle Dinge herantrat, auch ein vortrefflicher Lehrer sein. Und wahrlich, mit einer ganz besonderen Sorgfalt hat er auch seine Erziehung zum akademischen Lehrer und seine Weiterbildung selbst sich angelegen sein lassen. Darin erblickte er, wie er mir oft sagte, seine vornehmste Aufgabe. Ihr widmete er fast die ganze karg bemessene Zeit, die ihm seine Forschertätigkeit ließ; in ihr fand er seine vollste Befriedigung. Was er schon als Assistent in Marburg, dann in Hamburg und später in Berlin unter Flügge an Unterrichtsmaterial gesammelt, habe ich, da ich als sein Nachfolger seine Sammlungen nach Halle übersenden ließ, mit Staunen und Bewunderung gesehen. Seine Ferienreisen benutzte er vielfach zu seiner Weiterbildung. Alle die Jahre vor der Berufung auf den Lehrstuhl waren so für ihn Lehr- und Wanderjahre im wahren Sinn des Wortes, immer mit dem einen Ziel seiner Ausbildung als akademischer Lehrer. Mit noch größerer Bewunderung erfüllte es mich, zu sehen, was er in der Zeit des einen Semesters in Greifswald an neuem Unterrichtsmaterial zusammengebracht hat. Unermüdlich, unerschöpflich schien er in der Ausarbeitung von didaktisch wichtigen Demonstrationen und Versuchen für den Unterricht, in dem Streben, den Studenten zu exakter Beobachtung und eigenem Denken anzuregen. Seine Notizen, seine Anschaffungen zeigen, wie ernst er den Lehrberuf auffaßte, zeigen ihn als Organisator ersten Ranges. Auch hier lassen die Fundamente, die er hinterlassen hat, das Gebäude ahnen, das er dem Unterricht errichten wollte.

Lehrer, die dem Studenten die Begeisterung für das Fach und die ideale Auffassung seines Berufes zu vermitteln vermögen, üben eine Wirkung aus, die weit über die Zeit des Studiums segenbringend ist, und mehr bedeutet, als die bloße Uebermittlung schnell vergessener Tatsachen. Römer besaß, dank vorzüglicher didaktischer Schulung, die er während eines Jahres am Flüggeschen Institut noch besonders erweitert und vertieft hatte, und dann dank seiner natürlichen Begabung die Fähigkeit, eine derartige nachhaltige, segensreiche Wirkung zu entfalten. Auch aus diesem Grund ist der Verlust eines so hervorragenden akademischen Lehrers wie Paul Römer besonders zu beklagen. Ihm war ein feines Verständnis für die praktischen Bedürfnisse der Studenten, für ihre Leistungsfähigkeit, für ihr Können eigen und daneben die wichtige Gabe, auch schwierige Dinge so zu behandeln, daß dem Schüler weder die Schwierigkeit der Materie noch die Schwierigkeit der Darstellung bewußt wurde.

Selbst ein begeisterter Lehrer, übertrug er die Begeisterung auf die Schüler. Die Studenten fühlten die Hingabe des Lehrers an sein Fach, und die Freude am Lehren schuf die Freude am Lernen. Die akademische Jugend, die für derartige Imponderabilien ein feines Verständnis hat, hing von vornherein mit aufrichtiger Hochachtung und Verehrung an ihm. Sie erkannte seinen lauten, festen Charakter und sein warmfühlendes Herz. Das war ihm der schönste Lohn.

Er war aber nicht nur ein guter Lehrer für die Studenten, sondern er hat auch als Forscher, namentlich in seiner Marburger Zeit, eine Reihe von älteren Schülern um sich geschart, wie Bauereisen, Esch, Joseph Kleinschmidt, Krusius, die bedeutsame Arbeiten unter seiner Leitung ausgeführt haben. Ihnen allen ging er als ein leuchtendes Beispiel nie rastender Gewissenhaftigkeit und Arbeitsfreudigkeit voraus und wußte allein schon dadurch den Ehrgeiz seiner Schüler anzuregen und wachzuhalten.

Sein Forschungsgebiet, das ja weitgehend die Interessen der Landwirtschaft berührte (Rindertuberkulose, Milchkonservierung usw.), gab ihm vielfach Gelegenheit, die Ergebnisse im weiteren Kreis von Landwirten vorzutragen. Auch bei diesen populären Ausführungen bewies er sein besonderes

didaktisches Geschick. In ländlicher Umgebung aufgewachsen und Schwiegersohn eines Landwirts, besaß er ein hohes Interesse und Verständnis für die einschlägigen Fragen und wußte deshalb auch seine sachlichen Forderungen mit den Bedürfnissen der Praxis stets in Uebereinstimmung zu bringen.

* * *

Römers Forschen und Lehren, so sehr es auch im Vordergrund stand und ihn ganz erfüllte, ist doch bloß ein kleiner Teil seines Ich, eine Lebensäußerung, ein Ausfluß der Persönlichkeit.

Noch einige Worte deshalb zum Schluß über Paul Römer als Menschen.

Auch wer nicht das Glück hatte, ihn zu kennen, wird schon aus seinen Arbeiten ein richtiges Bild seiner Persönlichkeit gewinnen, denn Persönlichkeit und Beruf stehen ja in steter untrennbarer Wechselwirkung.

Jetzt, da ich diese Zeilen niederschreibe, entsinne ich mich wieder bis ins einzelne der ersten Begegnung mit ihm vor nunmehr 13 Jahren. Es war zum Schluß des Sommersemesters 1903, zu dessen Anfang wir uns beide habilitiert hatten. Die Lektüre seiner Habilitationsschrift hatte in mir den Wunsch erweckt, den Autor, mit dem ich damals schon im Briefwechsel stand, persönlich kennen zu lernen. Ein Ferienaufenthalt in der nahen Heimat bot die willkommene Gelegenheit, ihn in Marburg aufzusuchen. Ich fand ihn nicht im Institut. Es war ein schöner Herbsttag — und ich wanderte hinauf zum neuerrichteten Behringwerk am Schloßberg. Da begegnete mir ein Herr auf dem Wege, in dem ich, obwohl ich nie ein Bild von ihm gesehen, sofort Römer zu erkennen glaubte, und ich hatte mich nicht getäuscht. Unwillkürlich machen wir uns ja bei der Lektüre eine Vorstellung vom Aeußeren des Autors, und so etwa hatte ich ihn mir vorgestellt.

Es bestand eine seltene Harmonie zwischen seiner äußeren Erscheinung und seinem inneren Wesen. Der feine, scharf geschnittene Kopf mit den klugen Augen, dem lebhaften Mienenspiel, die straffe elegante Haltung und die vollendete Beherrschung der Formen erweckten von vornherein den Eindruck der Vornehmheit und geistigen Bedeutung.

Lange saß ich ihm damals gegenüber in dem alten hessischen Bauernhaus am Schloßberg, das nahe dem Behringwerk in einem Park mit uralten Bäumen gelegen und mit feinem künstlerischem Geschmack ausgestattet, ihm und Much als Wohnung diente.

Seitdem haben wir uns häufig gesehen in Marburg oder in Gießen, wo ich den größten Teil der Ferien zu verbringen pflegte. Einmal besuchte er mich auch in Königsberg gelegentlich einer Vortragsreise. Das Jahr vor seiner Berufung nach Greifswald arbeiteten wir in Berlin Wand an Wand im selben Gebäudekomplex, er bei Flügge im Hygienischen Institut, ich bei Heffter im Pharmakologischen Institut.

Der erste Eindruck, den ich von ihm empfangen hatte, blieb und vertiefte sich immer mehr. Es ging ein besonderer Zauber von seiner Persönlichkeit aus. Die gleiche Harmonie, wie zwischen seiner Erscheinung und seinem offenen, ehrlichen, jedem äußeren Schein abholden Wesen, bestand auch zwischen seiner ganzen Persönlichkeit, seiner Welt- und Lebensanschauung und seiner Lebensführung.

Um ihn herum war eine Atmosphäre von seltener Reinheit und Vornehmheit. Mehr als ein hervorragender Forscher war er ein selten guter und reiner Mensch, eine der lebenswürdigsten Verkörperungen des Wesens echt deutschen Gelehrtentums.

Seine Untersuchungen über Tuberkulose, speziell seine Bestrebungen in der Wohnungsfrage, sein Interesse an Bodenreformbewegungen hatten den tiefsten Grund in seiner Humanität und seinem lebhaften Mitgefühl für die Armen. Er war ein Mann, der, einmal auf seinem Platze, sicher weit über das gewöhnliche Maß hinaus Unvergängliches zum Nutzen der Allgemeinheit geleistet hätte.

So war er geliebt und geehrt von allen, die ihn kannten, auch von denen, die seine wissenschaftlichen Leistungen nicht zu würdigen verstanden.

So streng er gegen sich selbst war, so nachsichtig erschien er gegenüber Fehlern und Schwächen anderer. Das peinlichste Gerechtigkeitsgefühl beseelte ihn auch seinen Widersachern gegenüber.

Römer ist nichts mühelos in den Schoß gefallen; er hat sich sein Glück selbst geschmiedet in rastloser Arbeit. Aber vielleicht gerade deshalb achtete er fremdes Verdienst nicht gering, lag ihm auch das Schicksal anderer am Herzen.

Eine viel zu universelle Natur, um ganz in der Berufsarbeit aufzugehen, fand er bei allem Fleiß stets noch Zeit zu Wanderungen in der Natur, zu edler Geselligkeit und zu künstlerischer Erholung im Kreise seiner Familie, an der Seite seiner ihm gleichgesinnten Gattin. Er besaß eine tiefe Allgemeinbildung, eine warme Verehrung und ein feines Verständnis für die schöne Literatur, die bildende Kunst und vor allem die Musik.

Wohl der Einfluß v. Behrings und der Umgang mit seinem so vielseitigen Freund und Kollegen Much führten ihn auch zur Philosophie, vor allem zu Kant. So gilt auch von ihm das schöne Wort des Hippokrates *ἱατρὸς φιλόσοφος ἰσοθύρος*.

Wissenschaftliche Veröffentlichungen von P. H. Römer.

1900.

1. Beiträge zur Auffassung des Faserverlaufs im Gehirn auf Grund des Studiums von Kindergehirnen. Diss. Marburg, 1900.

1901.

2. Ueber intrauterine und extrauterine Antitoxinübertragung von der Mutter auf ihre Deszendenten. Berl. klin. Wochenschr., 1901, No. 46.
3. (mit v. Behring) Bericht über die Wertbestimmung des Pariser Pestserums. Klin. Jahrb., 1902.

1902.

4. (mit v. Behring und Ruppel) Tuberkulose. Beitr. zur exp. Therapie, Heft 5, 1902.

1903.

5. Ueber Tuberkelbacillenstämme verschiedener Herkunft. Habilitationsschrift Marburg, 1903.
6. Zur Frage der Formaldehyddesinfektion. Beitr. zur exp. Therapie, Heft 6, 1903.
7. Ueber Trinkwasserversorgung mit besonderer Berücksichtigung der Wasserverhältnisse Marburgs. Ebenda.

1904.

8. Neue Mitteilungen über Rindertuberkulosebekämpfung. Beitr. zur exp. Therapie, Heft 7, 1904.
9. Ueber die Einwirkung des galvanischen Stroms auf Tetanusgift, Tetanusantitoxin und Toxin-Antitoxingemische. Berl. klin. Wochenschr., 1904, No. 9.
10. Ultramikroskopische Untersuchungen. Zeitschr. f. physik. u. diätetische Therapie, Bd. 8.
11. Ueber den physikalischen Stoffaustausch zwischen Mutter und Foetus. Ebenda.
12. Ueber Tuberkulose-Immunisierung. Tuberculosis, 1904.
13. Neue Forschungen auf dem Gebiet der Tuberkulosebekämpfung, Cassel, Gebr. Gotthelft, 1904.

1905.

14. Weitere Studien zur Frage der intrauterinen und extrauterinen Antitoxinübertragung von der Mutter auf ihre Nachkommen. Beitr. zur exp. Therapie, Heft 9, 1905.
15. Ueber dialysiertes Diphtheriegift. Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 8.
16. Ueber die Schutzimpfung gegen die Tuberkulose der Rinder. Referat, eingereicht dem Internationalen tierärztl. Kongreß zu Budapest 1905.
17. Die bisherigen Erfolge der Behringschen Rindertuberkuloseschutzimpfung in der landwirtschaftlichen Praxis. Vortrag, gehalten auf dem Internationalen tierärztl. Kongreß zu Budapest 1905.
18. Zur Präventivtherapie der Rindertuberkulose nebst kritischen Studien zur Tuberkuloseinfektionsfrage. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 4, Heft 4.

1906.

19. Ueber Kuhmilchgewinnung und Kuhmilchvertrieb mit besonderer Berücksichtigung der Uebertragungsgefahr von Krankheiten durch die Kuhmilch. Hess. landwirtschaftl. Zeitschr., 1906, No. 3.
20. Ueber Rindertuberkulosebekämpfung mit besonderer Berücksichtigung der Rindertuberkuloseschutzimpfung. Verhandl. der Landwirtschaftskammer für Ostpreußen, 1906.
21. (mit Much) Ueber ein Verfahren zur Gewinnung einer von Tuberkelbacillen und anderen lebensfähigen Keimen freien, in ihren genuinen Eigenschaften im wesentlichen unveränderten Kuhmilch. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 5.
22. Die Versorgung der Großstädte mit Säuglingsmilch. Münch. med. Wochenschr., 1906, No. 25.
23. (mit Much) Ueber intestinale Antitoxinresorption. Sitzungsberichte der Gesellsch. zur Beförd. der gesamten Naturw. Marburg, 1906, 5.
24. (mit Much) Antitoxin und Eiweiß. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 63, Heft 6.
25. (mit Much) Milch unter dem Einfluß des Lichtes. Sitzungsberichte der Gesellsch. zur Beförd. der gesamten Naturw. Marburg, 1906, 7.

26. (mit Much) Ueber belichtete Perhydrazemilch. Berl. klin. Wochenschr., 1906, No. 30/31.
27. (mit Much) Ueber intestinale Eiweißresorption. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 64, Heft 2.

1907.

28. Das Tuberkulin in seiner diagnostischen Anwendung bei Tieren. Handb. der Immunitätsforschung, Jena, G. Fischer, 1907.
29. Tuberkulose-Vaccin. Ebenda.
30. Tuberculosis. Immunizacion naturel. Revista de la Sociedad Medica Argentina, Vol. 15, 1907.

1908.

31. Ueberempfindlichkeit und Tuberkuloseimmunität. Verhandl. des Aerztl. Vereins zu Marburg. Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 27 und 35.
32. Experimenteller Beitrag zur Bewertung der natürlichen Säuglingsernährung. Sitzungsberichte der Gesellsch. zur Beförd. der gesamten Naturw. Marburg, 1908, 6.
33. Spezifische Ueberempfindlichkeit und Tuberkuloseimmunität. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 11, Heft 2.
34. Ueber normale Antitoxine. Sitzungsberichte der Gesellsch. zur Beförd. der gesamten Naturw. Marburg, 1908, 8.
35. Ueber intestinale Resorption von Serumantitoxin und Milchantitoxin. Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 1.
36. Ueber das Vorkommen von Tetanusantitoxin im Blute normaler Rinder. Ebenda, Bd. 1.

1909.

37. Ueber Beziehungen zwischen Menschen- und Rindertuberkulose. Verhandl. des Aerztl. Vereins Marburg. Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 8.
38. Aktuelle Tuberkulosefragen. Sitzungsberichte der Danziger Naturforschenden Gesellschaft 19. I. 1909.
39. Der Kampf gegen die Rindertuberkulose. Westpr. landwirtschaftl. Mitteilungen, 1909.
40. Was soll der Landwirt gegen die Verbreitung der Tuberkulose unter seinen Rindern tun? Landwirtsch. Zentralbl. f. d. Prov. Posen, 1909.
41. Ueber intrakutane Tuberkulinanwendung zu diagnostischen Zwecken. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 12, Heft 1.
42. Ueber den Uebergang von Toxinen und Antitoxinen in die Milch und ihre Uebertragung auf den Säugling durch die Verfütterung solcher Milch. Handb. der Milchkunde, Wiesbaden 1909.
43. Ueber experimentelle kavernöse Lungentuberkulose. Berl. klin. Wochenschrift, 1909, No. 18.
44. Weitere Versuche über Immunität gegen Tuberkulose durch Tuberkulose. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 13.
45. Ueber Tuberkulose-Immunität mit Demonstrationen. Aerztl. Verein Marburg, 21. V. 1909. Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 33.

46. (mit Sames) Beiträge zur antitoxischen Immunisierung auf intestinalem Wege. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, Heft 1.
47. (mit Joseph) Zur Verwertung der Intrakutan-Reaktion auf Tuberkulin. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 14, Heft 1.
48. (mit Joseph) Prognose und Inkubationsstadium bei experimenteller Meerschweintuberkulose. Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 28.
49. (mit Joseph) Ueber ein tuberkuloseprognostisches Verfahren. Sitzungsberichte der Gesellsch. zur Beförd. der gesamten Naturw. Marburg, 1909, 5.
50. Ueber den Nachweis sehr kleiner Mengen des Diphtheriegiftes. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, Heft 2.
51. (mit Sames) Zur Bestimmung sehr kleiner Mengen des Diphtherie-antitoxins. Ebenda, Bd. 3, Heft 4.
52. (mit Somogyi) Eine einfache Methode der Diphtherieserum-Bewertung. Ebenda, Bd. 3, Heft 5.
53. Experimentell-kritische Untersuchungen zur Frage der Tuberkulose-Immunität. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. der Haustiere, Bd. 6, Heft 6.
54. Untersuchungen zur Aetiologie der epidemischen Kinderlähmung. Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 49.
55. (mit Sames) Ueber die Haltbarkeit heterologen Antitoxins im Organismus. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, Heft 3.

1910.

56. Tuberkulose-Immunität. Hamburgische medizinisch-kritische Blätter, 1. Jahrg., No. 1.
57. Zur Theorie der spezifischen Eiweißüberempfindlichkeit. Sitzungsberichte der Gesellsch. zur Beförd. der gesamten Naturw. Marburg, 1909.
58. Weitere Mitteilungen über experimentelle Affenpoliomyelitis. Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 5.
59. (mit Joseph) Beitrag zur Natur des Virus der epidemischen Kinderlähmung. Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 7.
60. (mit Joseph) Ueber Immunität und Immunisierung gegen das Virus der epidemischen Kinderlähmung. Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 10.
61. (mit Joseph) Beiträge zur Prophylaxe der epidemischen Kinderlähmung. Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 18.
62. Kindheitsinfektion und Schwindsuchtsproblem im Lichte der Immunitätswissenschaft. Tuberculosis, 1910, 4.
63. (mit Joseph) Zur Natur und Verbreitungsweise des Poliomyelitisvirus. Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 20.
64. Was leistet das Tuberkulin als Mittel zur Erkennung der Rindertuberkulose? Die Umschau, Frankfurt a./M. 1910, 24.
65. Tuberkulose und Wohnungsfrage. Verhandl. der 16. Generalversammlung des Deutschen Zentralkomitees zur Bekämpfung der Tuberkulose, Berlin 11. V. 1910.
66. (mit Sames) Beiträge zur Schardingerschen Reaktion der Kuhmilch. Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel, Bd. 20, Heft 1.

67. (mit Sames) Notizen zur Frage der Milchsterilisierung durch ultraviolette Licht. Hygienische Rundschau, 1910, 16.
68. Epidemiologische und ätiologische Studien über die spinale Kinderlähmung. Verhandl. des Kongresses f. innere Med., Wiesbaden 20. IV. 1910.
69. Die tuberkulöse Reinfektion. Verhandl. der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, Mai 1910. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 47, Beiheft.
70. (mit Joseph) Die tuberkulöse Reinfektion. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 17, Heft 3.
71. Die experimentelle Tuberkuloseinfektion des Säuglings. Ebenda.
72. (mit Joseph) Kasuistisches über experimentelle Meerschweintuberkulose. Ebenda.
73. (mit Joseph) Das Wesen der Tuberkuloseimmunität. Antikörperstudien. Ebenda.
74. Tuberkuloseimmunität, Phthisiogenese und Schwindsuchtbekämpfung. Ebenda, Bd. 17, Heft 3.
75. (mit Joseph) Tuberkulose und Tuberkulin-Reaktion. Ebenda.
76. (mit Joseph) Spezifisch wirksames Serum gegen das Virus der epidemischen Kinderlähmung. Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 11.
77. (mit Joseph) Noch einige Experimente zur Poliomyelitisfrage. Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 51.

1911.

78. Tuberkulosevaccin. Ergänzungsband des Handb. der Technik u. Methodik der Immunitätsforschung, Jena 1911.
79. Nachweis, praktische Bedeutung und Ursache der Tuberkulose-Immunität. Aerztl. Verein Marburg 4. III. 1911. Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 23.
80. Die epidemische Kinderlähmung (Heine-Medinsche Krankheit). Monographie, Verlag von J. Springer, Berlin 1911.
81. Experimentelle Beiträge zur Poliomyelitisfrage. Vortrag auf der 36. Wanderversammlung der Südwestdeutschen Neurologen und Irrenärzte in Baden-Baden am 20. V. 1911.
82. Ueber eine durch filtrierbares Virus bedingte Meerschweinchenkrankung. Vortrag bei der 5. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, Dresden 8. VI. 1911. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 50, Beiheft.
83. Ueber eine der Kinderlähmung des Menschen sehr ähnliche Erkrankung des Meerschweins. Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 26.
84. Nachlese aus der experimentellen Erforschung der Poliomyelitis acuta. Med. Klinik, 1911, No. 28.
85. Ueber den Erreger der Meerschweinchenlähme. Sitzungsberichte der Gesellsch. zur Beförd. der gesamten Naturw. Marburg, 1911, 3.

1912.

86. Experimentelle Poliomyelitis. Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilk., Bd. 8, 1912.

32 E. Friedberger. Dem Andenken Paul Heinrich Römers.

87. Tuberkuloseschutzimpfung. Handb. der Serumtherapie, herausgegeben von Wolff-Eisner, Verlag von W. Klinkhardt, Leipzig 1911.
88. Die Serumtherapie des Tetanus in der Veterinärmedizin. Ebenda.
89. Experimentelles und Epidemiologisches zur Lungenschwindsuchtfrage. Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 16.
90. Zur Schardinger-Reaktion der Kuhmilch. Biochem. Zeitschr., Bd. 40, Heft 1/2.
91. Ueber Immunität gegen natürliche Infektion mit Tuberkelbacillen. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 22.
92. Kritisches und Antikritisches zur Lehre von der Phthiseogenese. Ebenda.
93. Weiterer Beitrag zur Frage der Haltbarkeit heterologen Antitoxins im Organismus. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 13, Heft 3.
94. Antitoxin und Eiweiß. Ebenda.

1913.

95. (mit Siebert) Ein reines Tuberkulinpräparat (Tubolytin). Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 26, Heft 2.
96. (mit Viereck) Beiträge zum Wesen und zur Behandlung der Diphtherielähmung. Beitr. zur Klinik der Infektionskrankh. usw., Bd. 2, und Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 57.

1914.

97. Die Ansteckungswege der Tuberkulose. Handb. der Tuberkulose von Brauer, Schröder, Blumenfeld, 1914.
98. Die Grundlagen der Serumtherapie. Therapie des prakt. Arztes von Ed. Müller, 1914.
99. Fortschritte der ätiologischen Therapie. Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 11.
100. Beitrag zum Wesen der Tuberkuloseimmunität. Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 11.
101. Ein Wohltäter der Menschheit. Zu Emil v. Behrings 60. Geburtstag. Universum, 1914.
102. Bakteriologische Diphtheriestudien. Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 11.
103. Heine-Medinsche Krankheit. Spez. Pathologie und Therapie innerer Krankheiten von Kraus-Brugsch, 1914.
104. (mit Viereck) Das Verhalten des Antitoxins im anaphylaktischen Tier. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914.
105. Emil v. Behring zum 15. März 1914. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914.
106. Polemik mit Landmann. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 30.
107. Zur Spezifität der Tuberkulinreaktion. Medizin. Verein Greifswald 24. VII. 1914. Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 15.
108. (mit Köhler) Zur Antikörperhypothese der Tuberkulinüberempfindlichkeit. Medizin. Verein Greifswald 24. VII. 1914. Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 13.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathologischen Institut der Universität Leipzig.]

Das Verhalten der „aktiven“ Sera bei der Wassermannschen Reaktion und die antikomplementäre Wirkung alter „aktiver“ Sera.

Von Privatdozent Dr. P. Hübschmann,
Assistenten am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Mai 1916.)

Im 72. Bande des Centralblattes für Bakteriologie berichtet Marcus Rabinowitsch¹⁾ über Untersuchungen, auf die er eine Erklärung des Wesens der Wassermannschen Reaktion aufbauen zu können meint. Das Versuchsergebnis war, „daß sämtliche negativ und schwach positiv reagierenden Sera nach einer gewissen Zeit, die je nach dem Serum und je nach dem Antigen verschieden sein kann, komplett das Komplement zu binden anfangen. Dabei kommt in den aktiven Seris diese Erscheinung in bedeutend kürzerer Frist als in den inaktivierten zum Vorschein.“ — Rabinowitsch ist mit den bisherigen Theorien des Wesens der Wassermannschen Reaktion nicht zufrieden, weil die meisten das Auftreten eines für Lues spezifischen Reaktionsstoffes im syphilitischen Serum voraussetzen. Ein solcher Stoff dürfte dann nicht bei anderen Erkrankungen auftreten, und damit stände im Widerspruch, daß auch bei Lepra, Recurrens, Scharlach, Malaria positive Wassermannsche Reaktion beobachtet werden. Es ist dagegen einzuwenden, daß das Auftreten der Wassermannschen Reaktion bei anderen Erkrankungen als Syphilis nicht unbedingt gegen das Vorhandensein eines für Syphilis spezifischen Stoffes im Serum Syphilitischer sprechen würde. Man muß sich dazu die große Labilität des Komplements vergegenwärtigen, die stets die Möglichkeit einer unspezifischen Bindung (oder Hemmung oder Vernichtung) bedingen kann. Derartige Vorgänge sind ja zur Genüge bekannt, man denke

1) Rabinowitsch, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 72, 1914, p. 102.

besonders an die Ausschüttelung des Komplements durch Stoffe kolloidaler Natur. Wenn wir nun — und das sicher mit vollem Recht — annehmen, daß bei allen Serumreaktionen kolloidale Vorgänge (sicht- und unsichtbare Fällungen, Adsorptionen etc.) eine hervorragende Rolle spielen, und wenn wir uns weiter sagen müssen, daß wir uns über den Umfang solcher Vorgänge noch garnicht Rechenschaft geben können, so werden wir auch gestehen müssen, daß wir die zur Komplementbindung führenden Reaktionen in ihrem Mechanismus im einzelnen nicht recht beurteilen können, und daß wir weit davon entfernt sind, ihre Bedingungen zu beherrschen. Das ist auch der Grund dafür, daß die praktische Verwendung der Komplementbindungsreaktion nur sehr begrenzt ist. Sie hat sich für die Diagnose der meisten Krankheiten nicht so bewährt, wie man es nach der Theorie hätte erwarten müssen. Der Grund, warum sie sich in der Wassermannschen Form bei der Syphilis in so hohem Maße bewährt, ist ebenso wenig klar. Die Annahme, daß die Reaktion an einen bei Syphilis auftretenden Körper von Ambozeptorennatur geknüpft ist, ist natürlich nicht notwendig.

Rabinowitsch glaubt nun, daß die theoretischen Schwierigkeiten beseitigt sind, wenn er nicht das Auftreten eines neuen Reaktionsstoffes im Blute Syphilitischer annimmt, sondern das Schwinden eines normalerweise vorhandenen, etwa in dem Sinne, wie antitryptische Fermente bei allen möglichen Krankheiten aus dem Serum verschwinden können. Er glaubt, einen Beleg dafür in dem Ausfall seiner Versuche an gelagerten Seris zu finden. Er nimmt an, „daß bei längerem Aufbewahren aus diesen Seris in ähnlicher Weise wie das antitryptische Ferment oder wie das Komplement aus den gelagerten Meerschweinchenseris irgend ein fermentativer Bestandteil, der die Fähigkeit hat, die Komplementbindung zu verhindern, inaktiv wird.“ — Darin ist die Auffassung der Komplementbindung als Parallele zu Fermentwirkung eine Voraussetzung, die durch die Tatsachen nicht gestützt erscheint. Die Komplementbindung werde durch einen normalen Serumbestandteil verhindert. Es müßte dann also ein vornormales Serumstadium geben, in dem aber natürlich wieder ein Reaktionskörper vorhanden sein müßte, der die

Komplementbindung bewirkt. Davon ist nichts bekannt. Ein Vergleich mit der antitryptischen Reaktion ist darum ganz unangebracht. Und endlich: warum wird denn der anti-komplementbindende Bestandteil des Serums nicht auch durch die gewöhnliche Inaktivierung durch Erhitzen vernichtet?

Die theoretischen Voraussetzungen von Rabinowitsch sind also abzulehnen. Wie steht es mit den tatsächlichen Belegen?

Dem Verhalten des „aktiven“ Serums bei der Wassermannschen Reaktion hatte ich seit langer Zeit meine Aufmerksamkeit geschenkt und hatte dabei auch schon Beobachtungen gemacht, die auf eigenartige Veränderungen der aktiven Sera bei längerem Aufbewahren hindeuteten. Ich habe dann, da ich die Schlüsse von Rabinowitsch für falsch hielt, seine Untersuchungen einer genauen Nachprüfung unterzogen.

Bevor ich darüber berichte, möchte ich zum Verständnis der Tabellen kurz schildern, in welcher Weise die Wassermannsche Reaktion in unserem Institut angestellt wird.

Das Verfahren ist von Dr. Reinhardt, jetzigem Prosektor am Krankenhaus St. Georg in Leipzig, ausgearbeitet und bei uns eingeführt worden¹⁾. Ich habe es übernommen, da es sich für praktische Zwecke als ganz besonders brauchbar erwies. Es wird bei uns jedes Serum, wenn nicht ein besonderer Anlaß für ein abweichendes Verfahren vorliegt, mit zwei Extrakten (aus Organen syphilitischer Neugeborener) geprüft, und zwar jedesmal in unverdünnter Dosis von 0,2 und 0,1 ccm. Die Extrakte sind so austitriert, daß die wirksamste Extraktdosis bei 0,2 Serum in 1 ccm NaCl und die bei 0,1 Serum in 0,5 ccm NaCl enthalten ist. Als Kontrolle dient ein extraktloses Röhrchen mit 0,2 ccm Serum. Eine solche

1) Nachtrag bei der Korrektur: Während der Drucklegung dieser Arbeit hat sich Reinhardt selbst über sein Verfahren zur Ausführung der Wassermannschen Reaktion geäußert (Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 39, p. 1399). Ich möchte dazu folgendes bemerken. Für das Wesentliche in dem Verfahren halte ich die auch oben angegebene Abstimmung der Extrakte gegen zwei verschiedene Serumdosen, wodurch ein quantitatives Arbeiten ermöglicht wird. In der Verwendung des hämolytischen Systems weiche ich insofern von Reinhardt ab, als ich stets 0,1 Meerschweinchenkomplement einsetze. Eine Austitrierung des Komplementes halte ich aus theoretischen und praktischen Gründen, die hier nicht näher ausgeführt werden können, für untunlich. Dagegen muß meines Erachtens der hämolytische Ambozeptor vor jedem Versuch mit den gerade gebrauchten Blutkörperchen von neuem titriert werden.

Kontrolle genügt immer, da eigenhemmende Sera sich stets schon in dieser Dosis verraten. Als Komplement dient 1 ccm einer Verdünnung von Meer-schweinchenserum 1:10; 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung und Ambozeptor (mit 5—6-fachem Titer) dazu von Kaninchen wird ebenfalls in der Menge von je 1 ccm gebraucht. Bei diesem Verfahren ist auch ein quantitatives Ablesen des Ausfalls, worauf wir Wert legen, in ziemlich weiten Grenzen möglich.

Einige wenige Worte seien hier über das Verhalten der aktiven Sera im allgemeinen eingeschoben. Die doppelte Prüfung von inaktiven und aktiven Seren, die zuerst von Sachs und Altmann¹⁾, dann von Gross und Volk²⁾ und von Boas³⁾, später von anderen vorgenommen wurde, ergab uns bei mannigfachen Untersuchungen, im wesentlichen an Patientenserum, den Schluß, daß praktisch brauchbare Resultate damit vorwiegend bei frischen Infektionen mit klinisch undeutlichen Symptomen und dann bei Tabes dorsalis erzielt werden. Deswegen wenden wir jetzt auch für diagnostische Zwecke fast ausschließlich in solchen Fällen die doppelte Prüfung an. Es finden sich dabei zahlreiche Fälle, in denen im inaktiven Serum eine negative oder nur ganz schwach positive Reaktion erzielt wird, während das aktive einen sehr stark positiven Ausfall geben kann. Das ist oft für die praktische Beurteilung der Fälle von seiten des behandelnden Arztes von Bedeutung gewesen.

Doch das nur nebenbei. Bei der Nachprüfung der Untersuchungen von Rabinowitsch wurden zahlreiche Sera ganz unabhängig von den für sie gemachten klinischen Angaben einer Prüfung im inaktiven und im aktiven Zustand unterzogen, dann im Eisschrank mehrere Wochen aufgehoben und darauf von neuem ebenso untersucht. Ueber die Resultate geben die Tabellen I und II Auskunft.

In diesen Tabellen bedeutet also die Reihe 1 den Ausfall bei 0,2 Serum und 1 ccm Verdünnung von Extrakt a, Reihe 2 bei 0,1 Serum mit 0,5 ccm desselben Extraktes, Reihe 3 und 4 bei denselben Serummengen mit Extrakt b bei 1 und 0,5 ccm Verdünnung, endlich die Reihe 5 bei 0,2 Serum ohne Extrakt.

1) Sachs und Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, p. 700, Fußnote.

2) Gross und Volk, Wiener klin. Wochenschr., 1908, p. 1522.

3) Boas, Berl. klin. Wochenschr., 1909, p. 400.

Tabelle I.

No.	Datum	Erste Prüfung										Datum	Zweite Prüfung									
		Inaktiv					Aktiv						Inaktiv					Aktiv				
5354	5. I. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	0	f 0	20. IV. 14	k	k	k	k	k	f 0	k	f 0	k	k
5355	5. I. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	0	0	20. IV. 14	0	0	0	0	0	0	k	k	k	k
5385	8. I. 14	0	0	0	0	k	k	0	0	0	k	20. IV. 14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5416	22. I. 14	k	k	k	k	k	0	f 0	0	0	k	20. IV. 14	0	ik	0	ik	0	0	0	0	0	0
5450	29. I. 14	k	k	k	k	k	k	0	0	0	k	27. IV. 14	f 0	ik	0	f 0	0	0	0	0	0	0
5478	6. II. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	k	20. IV. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	k
5519	12. II. 14	k	k	k	k	k	fk	k	0	f 0	k	27. IV. 14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5527	12. II. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	k	27. IV. 14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5553	19. II. 14	f 0	fk	f 0	k	k	0	0	0	0	fk	27. IV. 14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5559	19. II. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	27. IV. 14	ik	k	0	k	k	k	k	k	k	k
5619	5. III. 14	fk	k	0	ik	k	f 0	ik	0	0	k	27. IV. 14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5625	5. III. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	k	27. IV. 14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle II.

No.	Datum	Erste Prüfung										Datum	Zweite Prüfung									
		Inaktiv					Aktiv						Inaktiv					Aktiv				
5352	5. I. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	ik	ik	20. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5379	8. I. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	20. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5380	8. I. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	k	20. IV. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	
5403	15. I. 14	0	fk	0	0	k	0	0	0	0	k	20. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5413	15. I. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	20. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5427	22. I. 14	0	ik	0	0	k	0	0	0	0	k	20. IV. 14	k	k	0	k	k	0	0	0	0	0
5445	22. I. 14	k	k	k	k	k	0	k	fk	0	k	20. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5420	22. I. 14	k	k	k	k	k	f 0	fk	0	0	k	20. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5500	6. II. 14	k	k	fk	k	k	k	fk	f 0	0	k	20. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5502	6. II. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	k	20. IV. 14	fk	k	0	0	k	0	0	0	0	0
5503	6. II. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	k	20. IV. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	0
5504	6. II. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	20. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5515	12. II. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	k	27. IV. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	0
5541	12. II. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	27. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5555	19. II. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	27. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5588	26. II. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	27. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5592	26. II. 14	k	k	ik	k	k	0	ik	0	0	k	27. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5599	26. II. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	27. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
5719	19. III. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	k	27. IV. 14	0	0	0	0	k	0	0	0	0	0
5783	2. IV. 14	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	27. IV. 14	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0

Die Bezeichnungen beziehen sich auf die Hämolyse nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°. k = komplette, fk = fast komplette, ik = inkomplette, f 0 = fast keine, 0 = keine Hämolyse.

In den Tabellen sind die Untersuchungsergebnisse von 32 Seren aufgeführt. Die Proben sind nicht ausgesucht, sondern es handelt sich um 32 hintereinander zur Untersuchung gekommene Blutproben. Die Liste ließe sich aus unseren Protokollen natürlich beliebig erweitern. Es genügen

aber die vorgelegten Resultate. Um die Uebersicht zu erleichtern, wurden die Resultate in zwei Tabellen zusammengefaßt. In der ersten sind 12 Sera enthalten, bei denen von einer Gesetzmäßigkeit des Verhaltens bei der zweiten Untersuchung nicht die Rede sein kann. Es handelte sich dabei zum größten Teil um solche Sera, die sich durch Verunreinigung mit Schimmelpilzen oder Bakterien auch schon äußerlich sehr verändert hatten. Diese Veränderung führt im Wassermannschen Versuch bald zu einer Eigenhemmung, bald auch zu unspezifischer Hämolyse. Solche Resultate lassen sich bei sorgsamer Asepsis bedeutend verringern, ja wahrscheinlich ganz ausschalten. Weitere Untersuchungen zeigten das, und man kann wohl mit Recht annehmen, daß das gewissermaßen normale Verhalten sich erst in der zweiten Tabelle widerspiegelt. Der Vollständigkeit halber mußte aber auch die erste Tabelle wiedergegeben werden, zu gleicher Zeit, um zu zeigen, daß bei solchen Versuchen ein steriles Arbeiten von nöten ist. Natürlich könnten auch wohl unter Umständen neben bakteriellen Verunreinigungen andere nicht näher erkennbare Einflüsse das Resultat der Hämolyse bei der zweiten Untersuchung beeinflussen. Vielleicht spielt auch in einigen Fällen eine mangelhafte Inaktivierung eine Rolle.

In der Tabelle II sind dann der Reihenfolge nach, in der sie zur Untersuchung kamen, die Mehrzahl der Sera, 20 an der Zahl, aufgeführt. Der Ausfall der Reaktion zeigt bei ihnen in der zweiten Untersuchung ein ganz gesetzmäßiges Verhalten. Was die inaktivierten Proben betrifft, so kann man wohl die leichten Unregelmäßigkeiten in ihrem Verhalten als irrelevant vernachlässigen und kann sagen, daß sie selbst noch nach mehreren Monaten bei der zweiten Untersuchung denselben Ausfall ergeben wie bei der ersten, daß also keine Veränderung ihrer Eigenschaften eingetreten ist. Die aktiven Sera verhalten sich ganz anders. Nicht nur die vorher negativen Sera zeigen in sämtlichen eigentlichen Versuchsröhrchen eine vollkommene Hemmung der Hämolyse, sondern auch sämtliche extraktfreien Kontrollen, sowohl in den negativen als auch in den positiven Seris, geben dieselbe komplette Hemmung. Die Zeit, die von der ersten bis zur zweiten Untersuchung verstrich, schwankte zwischen

3 $\frac{1}{2}$ Wochen und 3 $\frac{1}{2}$ Monaten. Um den Zeitraum genauer festzustellen, in dem die Veränderung der Sera vor sich geht, wurde noch eine Anzahl besonderer Untersuchungen gemacht, von denen einige Resultate in Tabelle III wiedergegeben sind. Diese Sera wurden von Woche zu Woche untersucht.

Tabelle III.

No.	Datum der Untersuchung	Inaktiv					Aktiv				
		fk	k	f0	fk	k	0	0	0	0	k
6007	22. V. 1914	fk	k	f0	fk	k	0	0	0	0	k
	28. V. 1914	fk	k	0	k	k	0	0	0	0	k
	4. VI. 1914	fk	k	0	fk	k	0	0	0	0	f0
	18. VI. 1914	fk	k	f0	k	k	0	0	0	0	0
6008	22. V. 1914	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
	28. V. 1914	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
	4. VI. 1914	k	k	k	k	k	0	0	0	k	k
	18. VI. 1914	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0
6009	22. V. 1914	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
	28. V. 1914	k	k	k	k	k	ik	0	ik	k	k
	4. VI. 1914	k	k	k	k	k	0	0	0	0	k
	18. VI. 1914	k	k	k	k	k	0	0	0	0	0

Wir sehen aus dieser Tabelle, daß, während die inaktivierten Sera in ihrer Wirksamkeit vollkommen unverändert bleiben, sich schon in der dritten Woche Veränderungen in den aktiven Seris zeigen, daß zumal die vorher negativen Sera positiv zu werden scheinen. Wir sehen aber weiter, daß nach 5 Wochen bei allen Seris eine vollkommene Hemmung in allen Röhrchen wie in Tabelle II erreicht ist.

Wir können nach den bisher mitgeteilten Resultaten den Satz aufstellen, daß alle nicht inaktivierten, steril im Eisschrank aufbewahrten Sera in ca. 5 Wochen eine Veränderung erfahren, die sie befähigt, in einer Dosis von 0,2 ccm ein 0,1 ccm Meerschweinchenkomplement enthaltendes hämolytisches System vollständig unwirksam zu machen.

Die Erscheinung hat zweifellos mit der Wassermannschen Reaktion an sich nichts zu tun, sofern man daran festhält, daß sie einen zwischen syphilitischem Serum und Extrakt stattfindenden Vorgang darstellt. Daß ich Rabinowitsch in seinen Argumenten nicht zu folgen vermag, wurde schon in der Einleitung betont. Aber auch die tatsächlichen Be-

funde stimmen nicht mit seinen Resultaten überein, denn es handelt sich bei den alten Seris nicht etwa um eine Verstärkung oder zur Neubildung der die Wassermannsche Reaktion bedingenden Eigenschaften, sondern um das Auftreten einer „Substanz“, die für sich allein die Hämolyse verhindert. Jedenfalls geht aus den Protokollen und Aeüßerungen von Rabinowitsch nicht hervor, daß er diese Eigenhemmung berücksichtigte. Ob die Erscheinung überhaupt in irgend einer Weise für die Theorie oder für die praktische Ausführung der Wassermannschen Reaktion eine Rolle zu spielen vermag, soll erst weiter unten geprüft werden. Will man sich über den Mechanismus des Vorganges Klarheit verschaffen, so muß man ihn zunächst ganz unabhängig von der Wassermannschen Reaktion betrachten.

Daß es sich um eine nachträgliche Einwirkung auf die Bindung zwischen Blutkörperchen und Ambozeptor handeln könne, war von vornherein nach allem, was wir über diese Bindung wissen, ausgeschlossen. Es konnte sich vielmehr nur um eine Verhinderung der Komplementwirkung handeln. Wenn man dann den Ueberlegungen die bekannten Ehrlichschen Anschauungen zugrunde legt, so waren drei Möglichkeiten vorhanden. Es konnte sich nämlich — von einigen theoretischen Bedenken abgesehen — um eine Komplementoidverstopfung handeln; das Komplement des aufbewahrten menschlichen Serums hätte dann seine zymorphe Gruppe verloren und würde den hämolytischen Ambozeptor besetzen und an einer Verbindung mit dem Meerschweinchenkomplement verhindern. Es konnte sich zweitens um das Auftreten einer Substanz handeln, die in Analogie zu den Antikomplementen auf die haptophore Gruppe des Meerschweinchenkomplementes wirkt und dieses so an der Bindung hindert. Oder endlich konnte das abgestandene Serum die zymorphe Gruppe des Meerschweinchenkomplementes vernichten und so die Lösung der Blutkörperchen hintanhaltend. Ich sehe dabei ganz von den Meinungen derer ab, die dem Komplement noch eine kompliziertere Zusammensetzung zuschreiben.

Was zunächst die Komplementoidverstopfung betrifft, so lagen die theoretischen Bedenken darin, daß es überhaupt nicht mit aller Klarheit erwiesen ist, daß es Komplementoide im Sinne Ehrlichs gibt. Außer-

dem aber hatten Ehrlich und Sachs¹⁾ stets die Meinung vertreten, daß die Komplementoide eine geringere Avidität zum Ambozeptor haben als die intakten Komplemente. Immerhin mußte diese Möglichkeit für unsern Fall in Betracht gezogen werden. Ehrlich und Sachs, die überhaupt die ganze Ehrlich'sche Lehre von der Seitenkettentheorie besonders an dem Beispiel der Hämolyse ausbauten, schlossen auf das Vorhandensein von Komplementoiden in bei 56° inaktivierten Seris, weil sich mit solchen Seris bei Injektion passender Tiere noch „Antikomplemente“ erzielen ließen. Auf Grund der Ehrlich'schen Theorie konnte danach das Komplement nicht ganz zerstört sein, sondern die erhaltene haptophore Gruppe mußte die Ursache der immunisatorischen Erzeugbarkeit von Antikomplementen sein. Daß sich die Komplementoide in der Regel dem direkten Nachweis entziehen, wurde eben durch ihre verminderte Avidität zum Ambozeptor erklärt. Nur in einem Fall sollte der Nachweis gelungen sein, nämlich bei der Kombination von Meerschweinchenerythrocyten und Normalhundenserum, das einen Ambozeptor für Meerschweinchenerythrocyten besitze. In bei nur 50–52° (zur Vermeidung der Ambozeptorschädigung) inaktivierten Seris sollten mit 4 verschiedenen Verfahren die Komplementoide nachweisbar sein. Während sich nämlich nach dem Zusammenbringen des inaktivierten Hundeserums mit den Blutkörperchen bei 37° eine nachträgliche Komplettierung nicht erzielen ließ, gelang dies, wenn die Bindung bei 0° vor sich ging, weil bei dieser Temperatur analog den Komplementen auch die Komplementoide nicht gebunden würden. Zweitens ließ sich durch nachträgliches Behandeln der Erythrocyten mit dem Hundeserum bei 37° das Phänomen der Verstopfung von neuem demonstrieren. Drittens konnten mittels Adsorption durch Hefe analog den Komplementen auch die fraglichen Komplementoide aus dem Hundeserum entfernt werden, und viertens ließ sich ebenfalls in Analogie mit den Komplementen bei erhöhter molekularer Konzentration auch eine Bindung der Komplementoide verhindern. — Auffallend ist es, daß Ehrlich und Sachs nicht auch den Nachweis des Komplementes in der Aufschwemmungsflüssigkeit versuchten, das doch nach der Theorie ganz unverändert geblieben sein mußte.

Bei allen Versuchen, die ich zur Ermittlung des Mechanismus der oben geschilderten Erscheinung anstellte, wurden stets 4–5 Wochen alte, nicht inaktivierte menschliche Sera benutzt. Die Blut-Ambozeptormischung wurde zirka eine Stunde vor dem Gebrauch hergestellt und bei Zimmertemperatur belassen. Handelte es sich in unserm Fall um eine Komplementoidverstopfung, so durften die abzentrifugierten Blutkörperchen nachträglich durch frisches Komplement nicht mehr auflösbar sein. Das mußte sich sowohl dann zeigen,

1) Ehrlich und Ehrlich und Sachs, Ges. Arbeiten zur Immunitätsforschung, 1904, 1–8 und 19.

wenn zuerst das abgestandene Serum (in diesen Versuchen stets 0,2) mit dem Komplement zusammengebracht, nach einer Stunde die Blut-Ambozeptormischung zugesetzt und nach mindestens einer weiteren halben Stunde die ungelösten Blutkörperchen geprüft wurden. Das mußte sich aber besonders auch dann zeigen, wenn die Blutambozeptormischung zunächst allein für 1—2 Stunden mit dem alten Serum zusammengebracht und die Blutkörperchen dann der Komplementwirkung ausgesetzt wurden. In beiden Fällen war aber von einer Hemmung der Hämolyse nie die Rede, sondern die Blutkörperchen wurden prompt in wenigen Minuten aufgelöst. Daß die mangelhafte Avidität des fraglichen Komplementoids dabei nicht im Spiele sein konnte, war besonders deshalb auszuschließen, weil sie dann auch in den Versuchen, in denen das alte Serum zugleich mit dem Komplement in Berührung mit der Blut-Ambozeptormischung kam, hätte zutage treten müssen. Handelte es sich um Komplementoidverstopfung, so mußte außerdem in allen Versuchen, bei denen trotz Zusatz frischen Komplementes eine Lösung nicht erfolgte, das unverbrauchte Komplement in der Zwischenflüssigkeit nachweisbar sein. Es ließ sich leicht zeigen, daß das nie der Fall war. Weder in den Ausgangsversuchen zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion, noch in den extraktfreien Kontrollen dieser Versuche, bei denen zunächst das alte Serum mit dem Komplement eine Stunde gemischt blieb bis zum Zusatz von Blut-Ambozeptor, noch in solchen Röhrchen, bei denen zuerst das alte Serum allein mit Blut-Ambozeptor gemischt und dann erst ohne Entfernung der Zwischenflüssigkeit das Komplement zugesetzt wurde, ließen sich mit der abzentrifugierten Flüssigkeit auch nur die geringsten Spuren von mit Ambozeptor beladenen Blutkörperchen auflösen.

Aus diesen beiden Versuchsreihen, die stets immer wieder dasselbe unwandelbare Resultat gaben, ließ sich schon mit Sicherheit das Vorhandensein einer Komplementoidverstopfung als Ursache der Hemmungserscheinung ausschließen. Ich möchte aber erwähnen, daß parallel mit diesen Versuchen noch andere angestellt wurden. Es wurde nämlich geprüft, ob sich die Hemmungstoffe, die ich ja zuerst für Komplementoide zu halten geneigt war, mittels eines Adsorptions-

verfahren entfernen ließen. Entsprechend den Untersuchungen von Ehrlich und Sachs hätte das der Fall sein müssen. Ehrlich und Sachs mußten die Adsorbierbarkeit ihrer Komplementoide durch emulsionsartige Aufschwemmungen, die eine große Oberfläche im Sinne der Kolloidchemie boten, fordern, weil die Komplemente diese Eigenschaft besitzen. Die Adsorption der Komplemente ist später noch von vielen Autoren genauer studiert worden, die der fraglichen Komplementoide, soweit ich sehe, nur von Wechselmann¹⁾. Ich wählte für meine Versuche nach der Empfehlung des letzteren Autors, der wiederum auf Bordet fußt, frisch gefälltes Baryumsulfat und in einigen Fällen Hefe. Ich habe nun durch Aufschwemmung dieser Substanzen in den alten hemmenden Seris bisher nur in 2 von ca. 20 Fällen die Hemmungskörper entfernen können. Die Sera wurden mit verschiedenen Mengen der Substanzen entweder eine bis mehrere Stunden geschüttelt oder einige bis 12 Stunden einfach damit stehen gelassen, dann klar abzentrifugiert. Es ist möglich, daß sich die Zahl der erfolgreichen Versuche durch genauere Ausarbeitung der Technik vergrößern ließe. Wenn diese Resultate allein ohne die oben erwähnten daständen, würden sie jedenfalls nicht gegen das Vorhandensein von Komplementoiden verwertet werden können. So aber können sie nicht dafür sprechen, sondern müssen anders gedeutet werden.

Wir haben es also bei den Hemmungserscheinungen in meinen Versuchen mit Komplementoiden nicht zu tun. Wie steht es nun überhaupt mit diesen Substanzen? — Ich habe es oben schon als auffallend bezeichnet, daß Ehrlich und Sachs in ihren Ausgangsversuchen den Nachweis des unverbrauchten Komplementes in der Zwischenflüssigkeit gar nicht gebracht haben. Sachs²⁾ meint in einer späteren Veröffentlichung, daß dieser Nachweis von Gay geführt ist. Der ganz kurz angeführte Versuch von Gay³⁾ ist aber, wie ich glaube, nicht ganz einwandfrei. Gay arbeitete ebenfalls mit Hundeserum und Meerschweinchenerythrocyten und benutzte auch

1) Wechselmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 3, 1909, p. 525.

2) Sachs, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 40, 1906, p. 125.

3) Gay, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 19, p. 1905, 172.

zum Nachweis des übrig gebliebenen Komplementes dasselbe System, obwohl er andererseits feststellt, daß auch inaktiviertes Hundeserum allein imstande ist, Meerschweinchenerythrocyten zu lösen. Der Nachweis wäre meines Erachtens einwandfrei nur so zu bringen, daß man das unverbrauchte Komplement in einem sicher inaktiven hämolytischen System wirken läßt. — Die Einwendungen, die Gay selbst gegen das Bestehen von Komplementoiden in der Versuchen von Ehrlich und Sachs macht, möchte ich nicht so hoch einschätzen wie der Autor selbst. Sie entspringen weniger aus der Ueberzeugungskraft seiner eigenen Experimente, als aus dem Gegensatz überhaupt, in dem damals die Schule Bordets zu der Ehrlich'schen stand. Viel schwerer ins Gewicht fallen die Einwendungen Moreschi's¹⁾ aus dem Pfeifferschen Laboratorium, die sich gegen die Existenz von Komplementoiden überhaupt wenden. Moreschi bezweifelt in erster Linie die Folgerung, daß die immunisatorische Erzeugung von sogenannten Antikomplementen mit inaktivierten Seris das Vorhandensein von Komplementoiden in diesen Seris voraussetze. Er weist dazu auf die Präzipitinbildung bei solchen Immunisierungen hin und auf die Tatsache, daß bei den Präzipitierungen Komplement stets gebunden, resp. vernichtet wird. Durch die Untersuchungen der folgenden Jahre über die Komplementbindungen bei allen möglichen Immunitätsvorgängen sind diese Einwendungen in weitestem Maße unterstrichen worden. Der einzige Fall, in dem der direkte Nachweis eines Komplementoids anscheinend gelang, ist Moreschi nicht beweiskräftig genug, um damit einem solchen Körper eine allgemeingültige Existenzberechtigung zu geben. Ich glaube, daß Moreschi im Recht ist und daß es gut wäre, den Begriff der Komplementoide als einen überflüssigen Ballast ganz fallen zu lassen. Den großartigen Errungenschaften der Ehrlich'schen Schule auf dem Gebiet der Immunitätsforschung würde damit wahrlich kein Abbruch getan werden, auch wenn noch hier und da ein anderer Ballast mitabfiel. Es ist dem Ehrlich'schen Lebenswerke nicht gedient, wenn auch die neuesten Zusammenfassungen immer wieder mit Dingen be-

1) Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., 1905, p. 1181.

schwert werden, die die ganze Uebersicht nur erschweren können. Es wäre besser, wenn in Zukunft mehr Wert auf die harmonische Abrundung gelegt wird.

Die sogenannte Komplementoidverstopfung trifft man übrigens in der Literatur nur selten an. Wechselmann glaubt ihr auf dem Gebiet der Wassermannschen Reaktion begegnet zu sein. Er glaubt, daß in den zu untersuchenden inaktivierten Seris ein Komplementoid vorhanden sei, das den die Reaktion gebenden Ambozeptor dieser Sera verstopfen, ihm die Bindungsmöglichkeit mit dem Meerschweinchenkomplement nehmen und so die Reaktion verschleiern könne. Da die betreffenden Sera nach Schütteln mit Baryumsulfat stärker positiv reagierten, so glaubte er, daß diese stärkere Reaktion durch die Entfernung der Komplementoide bedingt werde. Wenn man nur den springenden Punkt im Auge hat, so ist es nicht nötig, die Versuche nachzuprüfen, auch wenn sie für die Praxis der Wassermannschen Reaktion von Bedeutung wären; auch auf die theoretischen Grundlagen (Ambozeptornatur des in der Wassermannschen Reaktion reagierenden Körpers) kommt es dann nicht an. Was die Komplementoide betrifft, so setzt sie Wechselmann¹⁾ einfach voraus. Einen Beweis für ihr Bestehen können die Versuche nicht geben.

Endlich hat sich Fuhrmann²⁾ mit der Komplementoidverstopfung beschäftigt. Er arbeitete mit Rindererythrocyten und gegen diese gerichtetem hämolytischem Immunserum vom Kaninchen. Wurden diese nicht inaktivierten Sera 3 Wochen aufbewahrt, so verloren sie, was uns heute nicht mehr verwunderlich ist, ihre hämolytischen Eigenschaften ganz oder doch teilweise. Eine Komplettierung war möglich. Immerhin ist es auffallend, daß nach den Tabellen bei Zusatz von einem Tropfen frischen Kaninchennormalserums nach 2 Stunden nur eine mäßige Hämolyse auftrat, daß diese erst bei Zusatz von 6 Tropfen fast komplett und erst bei 8 Tropfen, also einer ganz enormen Komplementmenge, komplett wurde. Dies geschah bei gleichzeitigem Zusatz von Immunserum und Komplement. Wurden die Blutkörperchen und das Immun-

1) Wechselmann, l. c.

2) Fuhrmann, Sitzungsber. d. K. Ak. d. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl. Bd. 112, III, 1903, p. 254.

serum erst eine Stunde stehen gelassen und dann Komplement zugesetzt, so erfolgte keine Hämolyse. Man sieht schon jetzt eine weitgehende Analogie zu meinen eigenen Versuchen, und ich komme darauf noch zurück. Fuhrmann glaubt, wie gesagt, die Hemmung durch eine Komplementoidverstopfung erklären zu können. Das sollte durch den Bindungsversuch bei 0° festgestellt werden. Dabei wurden die abzentrifugierten Blutkörperchen durch Zusatz von Komplement gelöst. Wurde dann wieder Blut und Immunsérum für eine Stunde in den Brutschrank gebracht, so trat bei Zusatz von Komplement keine Hämolyse ein; in diesen Versuchen wurde aber die Zwischenflüssigkeit nicht entfernt. Daß in den abzentrifugierten Röhrchen der Hemmungskörper in der Zwischenflüssigkeit blieb, ist selbstverständlich. Die Versuchsergebnisse des Verfassers, die seine Komplementoidnatur erweisen sollen (2 Röhrchen), sind unklar, ebenso die Kontrollproben, aus denen eine Thermostabilität des Hemmungskörpers analog den Ehrlichschen Komplementoiden hervorgehen soll.

Ich komme nun auf meine eigenen Befunde zurück. Aus den Versuchen, die eine Komplementoidverstopfung durch das alte Serum ausschließen, geht zu gleicher Zeit hervor, daß bei der Hemmungserscheinung auch die dritte der angeführten Möglichkeiten, die Vernichtung der zymophoren Gruppe des Meerschweinchenkomplementes, nicht vorliegen kann. Denn daraus müßte ja wieder eine Komplementoidverstopfung resultieren, indem die isolierte bindungsfähige haptophore Gruppe des Komplementes, eben das Komplementoid, den Ambozeptor hätte besetzen müssen, der, wie wir sahen, bei diesen Versuchen stets frei und angreifbar blieb. — Wenn wir also bei der Ehrlichschen Denkweise verharren, so bleibt nur eine Erklärungsmöglichkeit, nämlich die, daß der Hemmungsstoff an der haptophoren Gruppe des Komplementes angreift, also nach Art der Ehrlichschen Antikomplemente wirkt. In jedem Fall kann man sagen, daß mehrere Wochen gelagerte Sera eine exquisit antikomplementäre Eigenschaft erlangen, womit über die Art ihrer Wirksamkeit noch nichts gesagt ist und noch nichts gesagt sein soll. Ich habe nun über den Grad dieser Wirksamkeit noch weitere Versuche gemacht, und

habe zunächst feststellen können, daß es durchaus nicht nötig ist, das alte Serum zuerst eine Stunde mit dem Komplement zusammenzulassen, sondern daß die gleiche Hemmung sich schon zeigt, wenn die Blut-Ambozeptormischung unmittelbar nach inniger Mischung von Serum und Komplement zugesetzt wird.

Sodann wurden die quantitativen Verhältnisse untersucht, indem fallende Dosen des Serums mit gleichen Komplementmengen (0,1) angesetzt wurden. Dabei wurde noch 0,1 Serum unverdünnt verwandt, die hundertstel Kubikzentimeter von Verdünnungen 1:10, die tausendstel von Verdünnungen 1:100 genommen. Die verwandten Sera waren 4–6 Wochen alt. Der Ausfall solcher Versuche ist aus Tabelle IV ersichtlich.

Tabelle IV.

Aktives Serum				Aktives Serum			
No.	Dosis	Komplement	Hämolyse	No.	Dosis	Komplement	Hämolyse
7821	0,1	0,1	0	7896	0,1	0,1	0
	0,05	0,1	0		0,05	0,1	0
	0,02	0,1	0		0,02	0,1	0
	0,01	0,1	0		0,01	0,1	0
	0,008	0,1	0		0,008	0,1	0
	0,006	0,1	0		0,006	0,1	0
	0,004	0,1	0		0,004	0,1	0
	0,002	0,1	0		0,002	0,1	f 0
	0,001	0,1	f k		0,001	0,1	k
7958	0,1	0,1	0	7993	0,1	0,1	0
	0,05	0,1	0		0,05	0,1	0
	0,02	0,1	0		0,02	0,1	0
	0,01	0,1	0		0,01	0,1	0
	0,008	0,1	0		0,008	0,1	0
	0,006	0,1	0		0,006	0,1	0
	0,004	0,1	0		0,004	0,1	0
	0,002	0,1	f 0		0,002	0,1	0
	0,001	0,1	k		0,001	0,1	k

Man ersieht aus dieser Tabelle, daß die alten Sera zum Teil noch in einer Dose von 0,002 ccm imstande sind, die Wirksamkeit von 0,1 Komplement total aufzuheben, das wäre also ein Verhältnis von 1:50. Dazu ist allerdings zu bemerken, daß in diesen Versuchen ganz leichte Nachlösungen, die aber nie über die Grenze von f 0 hinausgingen, in den bis 0,008 ccm enthaltenden Röhrchen nach 24 Stunden bisweilen zu beobachten waren.

Es war nun weiter von Interesse, zu wissen, ob hier quantitative Verhältnisse im Sinne eines chemischen Prozesses vorlagen. Wenn es sich darum handelte, so mußte sich das Verhältnis von 1:50 auch darin zeigen, daß stets die 50-fache Menge des Meerschweinchenserums nötig ist, um einen Teil des alten Serums unwirksam zur Hemmung zu machen. Es wurden darum gleiche Serummengen mit fallenden Komplementdosen angesetzt. Aus Tabelle V ist der Ausfall solcher Versuche zu ersehen. Die Versuche sind in der Weise angestellt, daß $\frac{1}{2}$ Stunde nach Zusatz der Blut-Ambozeptormischung noch einmal 0,1 Komplement hinzugefügt wurde.

Tabelle V.

Aktives Serum						Aktives Serum					
No.	Dosis	Komplement	Hämolyse nach $\frac{1}{4}$ Std.	Dann Komplement	Hämolyse	No.	Dosis	Komplement	Hämolyse nach $\frac{1}{4}$ Std.	Dann Komplement	Hämolyse
7821	0,1	0,05	0	0,1	k	7896	0,1	0,05	0	0,1	k
	0,1	0,02	0	0,1	0		0,1	0,02	0	0,1	0
	0,1	0,01	0	0,1	0		0,1	0,01	0	0,1	0
7958	0,1	0,05	0	0,1	k	7993	0,1	0,05	0	0,1	k
	0,1	0,02	0	0,1	0		0,1	0,02	0	0,1	0
	0,1	0,01	0	0,1	0		0,1	0,01	0	0,1	0

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß 0,05 ccm Komplement genügen, um 0,1 ccm des alten Serums seiner hemmenden Eigenschaften zu berauben. Quantitative Verhältnisse im Sinne der Chemie liegen also nicht vor.

Endlich wurde noch die theoretisch und praktisch wichtige Frage geprüft, wie sich die hemmenden Sera nach nachträglichem Inaktivieren bei 56° verhalten. Es ist nicht nötig, für diese Versuche eine besondere Tabelle aufzustellen. Sämtliche untersuchten Sera verloren durch das Inaktivieren ihre hemmenden Eigenschaften wieder und verhielten sich dann so, wie die gleich nach der Entnahme inaktivierten. Wenn es noch nötig wäre, so würde das einen weiteren Gegensatz zu den Komplementoiden bedeuten, denn diese sind eben nach Ehrlich thermostabil.

Es sei nun noch einmal auf die Arbeit von Fuhrmann hingewiesen. Es ist wohl keine Frage, daß es sich bei ihm

um ganz dieselbe Erscheinung handelt wie in meinen Versuchen. Das Wesentliche ist auch bei ihm, daß die isolierten, mit Ambozeptor beladenen Blutkörperchen durch Komplement lösbar bleiben, daß hingegen das Komplement nicht bei Anwesenheit des alten Serums in Wirksamkeit treten kann. Daß Fuhrmann trotz mangelhafter Kontrollen zu dem Schluß kam, er habe es mit einer Komplementoidverstopfung zu tun, ist ein Zeichen dafür, in wie weitgehender Weise die Ehrlichsche Denkweise damals die Gemüter beherrschte. Vielleicht wären auch die Versuche Fuhrmanns noch eindeutiger ausgefallen, wenn er seine Sera noch länger als 3 Wochen hätte stehen lassen.

Ich habe oben der Meinung Ausdruck gegeben, daß bei Zugrundelegung der Ehrlichschen Theorie für die Erklärung des Zustandekommens der Hemmungserscheinung nur die Annahme eines gegen die haptophore Gruppe des Komplementes gerichteten Körpers im Sinne der Ehrlichschen Antikomplemente in Betracht kommt. Daß es sich hier aber nicht um Antikomplemente im Sinne Ehrlichs handelt, liegt auf der Hand, ganz abgesehen davon, daß die Existenz solcher Antikomplemente überhaupt in Frage steht. Denn wir haben es hier mit einem langsam in einem Normalserum entstehenden Hemmungskörper zu tun. Aber auch beim Vergleich mit den komplementbindenden Prozessen, die im Anschluß an die Arbeiten von Bordet und Gengou bis in die neueste Zeit in weitestem Maße studiert wurden, muß sofort der Unterschied auffallen, daß dort stets erst ein Reaktionsprozeß zwischen Antigen und Antikörper zu einer Komplementbindung führt, während eben in unserem Fall das Serum allein die Komplementwirkung paralyisiert. Wenn sich aber doch Beziehungen zwischen jenen Prozessen und der hier mitgeteilten Erscheinung in irgendeiner Weise ergeben sollten, so wäre das vielleicht von hohem theoretischen Interesse für die Erklärung der Komplementbindungen überhaupt. — In unserem Fall geht in den aktiven Seris allmählich eine Veränderung vor sich, die das Serum befähigt, die Wirkung einer relativ sehr großen Komplementmenge bei einfacher Mischung hintanzuhalten; dabei mag es zunächst ganz dahingestellt bleiben, ob eine Substanz auftritt, die die haptophore Gruppe des

Komplementes besetzt, oder ob der Vorgang ein anderer ist. — Wie kann eine solche Veränderung erfolgen? — Es ist wohl von nicht geringer Bedeutung, daß die Veränderung offenbar an demselben labilen Bestandteil des Serums vor sich geht, der auch die komplettierenden Eigenschaften besitzt. In demselben Maße, in dem das Komplement schwindet, tritt die hemmende Eigenschaft hervor, und schließlich läßt sich der „Hemmungskörper“ wieder durch dasselbe Verfahren, durch Erhitzen auf 56°, beseitigen, das auch das Komplement inaktiviert, bzw. vernichtet. Wahrscheinlich läßt er sich auch ebenso wie die Komplemente durch Adsorption entfernen. Welcher Art nun diese Umänderung ist, wird sich zunächst kaum sagen lassen. Chemische und physikalische Gesichtspunkte kommen in Betracht. Ich möchte an ähnliche Vorgänge denken, wie sie an steril aufbewahrten Geweben auftreten und dort als Autolyse bezeichnet werden. Inwieweit ein solcher Abbau oder Umbau der Serum-Eiweißstoffe, insbesondere der Globuline, die ja die Träger der komplettierenden Eigenschaften sind, möglich ist, entzieht sich zunächst meiner Beurteilung. Ich möchte dazu bemerken, daß in einigen wenigen Versuchen ein Dialysieren des Hemmungskörpers nicht nachgewiesen werden konnte. Vielleicht sind gerade für den vorliegenden Fall weitere Untersuchungen aussichtsvoll, die auf dem Gebiete der feineren Eiweißchemie und insbesondere der Kolloidchemie liegen müßten. Im allgemeinen bin ich der Meinung, daß kolloidchemische Vorgänge beim Studium aller Immunitätsvorgänge, ganz besonders aber, wenn es sich um Untersuchungen an dem labilen Komplement handelt, nie vernachlässigt werden dürfen, daß man vielmehr stets in weitem Maße mit ihnen rechnen muß.

Bei meinen Untersuchungen kam nur ein Einzelfall zur Prüfung, nämlich die Hemmungsvorgänge bei der Kombination von Menschenserum und Meerschweinchenkomplement. Es wird festzustellen sein, ob es sich um ein allgemeingültiges Gesetz handelt. Die Versuche Fuhrmanns mit Kaninchen- und Kaninchenkomplement sprechen in diesem Sinne, sie werden aber vervollständigt werden müssen. Im übrigen habe ich in der Literatur keine ausführlicheren Auslassungen über die antikomplementäre Eigenschaft gelagerter aktiver

Sera finden können. Doch sei noch auf eine kurze Bemerkung von Sachs und Rondoni¹⁾ hingewiesen. „Aktive Sera“, sagen diese Autoren, „verändern sich beim Lagern leicht, indem sie ihre Ambozeptorwirkung einbüßen und antihämolytische Eigenschaften annehmen.“ Die Frage nach den Beziehungen zu den Autoantikomplementen Ehrlichs, hemmenden Substanzen, die bei der Immunisierung von Tieren als gegen ihr eigenes Komplement gerichtet auftraten, möchte ich zunächst ganz offen lassen.

Wenn ich nun noch einmal auf meine Ausgangsversuche zurückkomme, die sich ja an die Anstellung der Wassermannschen Reaktion anschlossen, so ist noch die Frage zu beantworten, ob die Versuchsergebnisse irgendwie für die Theorie oder die Praxis der Wassermannschen Reaktion verwertet werden können. Daß die Hemmungserscheinung mit der Wassermannschen Reaktion an sich nichts zu tun hat, wurde schon betont. Das Auftreten der Hemmungskörper wird auch ohne Belang sein, wenn aus irgendeinem Grund das Serum nicht gleich nach der Entnahme, sondern erst später, eventuell erst nach einigen Tagen, inaktiviert wird. Denn wir haben ja gesehen, daß auch durch die nachträgliche Inaktivierung die hemmende Eigenschaft der Sera vollkommen entfernt wird. Bei der gewöhnlichen Ausführung der Wassermannschen Reaktion mit inaktiven Seris ist also weder theoretisch noch praktisch mit der Hemmungserscheinung zu rechnen. Anders steht es bei Verwendung der aktiven Sera. Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß unter Umständen durch eine Summation der hemmenden Eigenschaften der Extrakte und der der aktiven Sera eine positive Wassermannsche Reaktion vorgetäuscht werden kann. Die eigenhemmenden Eigenschaften der aktiven Sera ließen sich zwar in meinen Versuchen erst von der 3. Woche an nachweisen. Aber es ist wohl keine Frage, daß sie bei passender Versuchsanordnung auch schon früher in die Erscheinung treten werden, vielleicht schon sehr bald nach der Entnahme. Daß in der Tat vorher „negative“ aktive Sera in einiger Zeit „positiv“ werden können, geht übrigens aus der Tabelle III hervor.

1) Sachs und Rondoni, Berl. klin. Wochenschr., 1908, p. 1969.

Der Beweis für eine wirklich unspezifische Hemmung durch Summation würde aber erst durch die Untersuchung einer größeren Anzahl von Seren gebracht werden können, die von einwandfrei nichtsyphilitischen Individuen stammen. Dabei müßte dann auch die Versuchsanordnung eine solche sein, daß aus der quantitativen Abstimmung der beiden hemmenden Komponenten, des aktiven Serums und des Extraktes, die Summation ihrer Wirksamkeit abgelesen werden kann. Ich zweifle nicht, daß ein solcher Nachweis leicht möglich ist.

Theoretisch ist die hemmende Eigenschaft alter aktiver Sera für die Wassermannsche Reaktion im aktiven Serum darum von Interesse, weil sie die Möglichkeit nahe legt, daß der stärkere positive Ausfall auf nichts anderem beruht, als eben auf dieser eigenhemmenden Wirkung, sich also aus den drei Komponenten zusammensetzt: 1) der komplementbindenden Wirkung der Reaktion zwischen Extrakt und Syphilitiker-serum, 2) der hemmenden Eigenschaft des Extraktes allein und 3) der eigenhemmenden Wirkung der Sera. Von allen bisher für die stärkere Wirksamkeit der aktiven Sera gegebenen Erklärungen würde diese die einfachste sein.

Zusammenfassung.

„Aktive“ menschliche Sera erlangen, steril aufbewahrt, in 4—5 Wochen die Fähigkeit, in geringen Mengen ein 0,1 ccm Meerschweinchenkomplement enthaltendes hämolytisches System vollkommen unwirksam zu machen. Es handelt sich nicht um Komplementoidverstopfung, sondern um eine direkt das Meerschweinchenkomplement treffende Wirkung; die komplettierende Kraft desselben geht vollkommen verloren, während die mit Ambozeptor beladenen Blutkörperchen des Systems der Einwirkung neuen Komplementes zugänglich bleiben. Durch nachträgliche Erwärmung auf 56° wird den Seris die hemmende Wirkung wieder geraubt, und sie verhalten sich dann wie sofort inaktivierte. Für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion hat die Erscheinung nur insofern Bedeutung, als sie eventuell zur Erklärung des stärkeren positiven Ausfalls bei Verwendung aktiver Sera beitragen kann.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“;
Laboratorium für Tropenkrankheiten (Leiter: Prof. Dr. Schilling).]

**Eine neue Immunitätsreaktion bei experimenteller
Trypanosomen-Infektion: die Blutplättchenprobe ¹⁾.**

Von Dr. H. Rieckenberg,
Assistent des Institutes.

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Mai 1916.)

Mischt man das Blut einer Ratte, die von einer Nagana-
infektion geheilt ist, mit Zitratbouillon, bevor das Blut ge-
rinnt, und setzt zu dieser Blutplasmaaufschwemmung Trypano-
somen des Ausgangsstammes, so macht man die Beobachtung,
daß schon nach einigen Minuten die Trypanosomen mit einem
dicken Haufen von Blutplättchen beladen sind, in dem sie sich
nur mühsam hin und her bewegen können. Zum ersten Male
machte ich diese Beobachtung gelegentlich von Versuchen,
die trypanozide Wirkung des in Wasser unlöslichen Trixidins
auch in vitro festzustellen. In der Literatur konnte ich keine
Angaben über eine ähnliche Beobachtung finden, dieses
Phänomen schien mir deshalb der Mitteilung wert, zumal sich
auch im Verlauf der daraufhin angestellten Untersuchungen
ergab, daß es vielleicht von praktischem Wert sein kann.

Sehr gut ist die Erscheinung zu beobachten, wenn man
folgendermaßen verfährt: Ratten werden mit dem Mäuse-
passagestamm eines Trypanosomenstammes (bei meinen ersten
Versuchen mit Naganastamm Prowazek von Prof. Morgen-
roth) infiziert und, wenn der Blutbefund ++ bis +++ ist,
mit einem Chemikale, z. B. Brechweinstein, Arsenophenylglycin,
Trixidins etc. geheilt. Ungefähr 3—4 Tage nach der Heilung
mischt man auf dem Objektträger 1 Tropfen Blut der so
vorbehandelten Ratte mit 1 Tropfen Zitratbouillon (2 Proz.
Natr. citric. zu schwach alkalischer gewöhnlicher Nährbouillon),
damit die Gerinnung verhindert wird, und fügt Trypano-
somen des Ausgangsstammes hinzu. Das Rattenblut und die

1) Abgeschlossen August 1914.

Trypanosomen müssen schnell und gut vermischt werden, damit keine Koagulation des Rattenblutes eintritt, wodurch die Reaktion verhindert würde. Das Gemisch wird dann mit einem Deckglas bedeckt und unter dem Mikroskop bei stärkstem Trockensystem beobachtet (Zeiß DD, Okular 4). Gleich nach dem Mischen sieht man, daß die Trypanosomen wohl noch gut auf der Stelle beweglich sind, doch die Fähigkeit verloren haben, sich merklich von ihrem Platz fortzubewegen, die gröbere Lokomotion ist geschwunden, während sie im Kontrollpräparat der Trypanosomenaufschwemmung in Zitratbouillon noch gut erhalten ist. Nach einigen Minuten kann man dann, wenn sich im Präparat viele Trypanosomen befinden, beobachten, daß diese sich zu Haufen vereinigen, also das schon mehrfach beschriebene Phänomen der Agglomeration eintritt. Was aber bislang noch nicht beobachtet worden zu sein scheint, ist, daß außerdem ein Verkleben der Trypanosomen mit den Blutplättchen stattfindet. Am deutlichsten wird dieses, wenn höchstens 20—30 Trypanosomen im Gesichtsfeld liegen, also so wenige, daß fast keine Agglomeration mehr eintritt. Dann heften sich allmählich im Verlauf von 15—20 Minuten Blutplättchen an die Trypanosomen, was sich bequem unter dem Mikroskop verfolgen läßt. Gewöhnlich heftet sich meist das Geißelende des Trypanosoms an ein Blutplättchen oder an ein Häufchen dieser Gebilde an. Unter heftigen peitschenden Bewegungen sucht es sich wohl zu befreien, doch bleiben diese Versuche fruchtlos. Es können sich immer mehr Blutplättchen an das Trypanosom anheften, so daß es unter Umständen ganz unter den Blutplättchen verschwindet und sich nur durch die langsame Bewegung des Häufchens verrät. In einem solchen Häufchen findet man dann auch häufig, jedoch nicht regelmäßig, Leukocyten. Die im Präparat vorhandenen Blutkörperchen stören nach einiger Uebung die Beobachtung der Reaktion nicht, weil die Trypanosomen gewöhnlich in einer anderen Ebene, nämlich höher, liegen als die Erythrocyten, die zu Boden sinken.

Eine Hauptbedingung für das Gelingen der Reaktion scheint wie erwähnt, zu sein, daß die Koagulation des Blutes des immunisierten Tieres verhindert wird. Serum von dem Blute immunisierter Tiere, das durch Gerinnen und Abheben des

Blutkuchens gewonnen war, und dem Blut, und darin Blutplättchen immuner oder normaler Tiere zugesetzt waren, gab danach wohl mit dem Ausgangstrypanosomenstamm Agglomeration, aber nicht die Blutplättchenreaktion. Bisher ist es mir technisch nicht gelungen, Plasma, Blutplättchen, Erythrocyten und Leukocyten derart voneinander zu trennen, daß durch Zusammenfügen dieser einzelnen Komponenten die Reaktion hätte angestellt werden können.

Ist die Blutplättchenreaktion nun eine Variation der bekannten und oft beschriebenen Agglomeration? Das Serum immunisierter Tiere zeigt das Agglomerationsphänomen, aber auch das Serum und das Blutplasma (Zitrataufschwemmung) normalen Pferdeblutes gibt Agglomeration, so daß von einer strengen Spezifität bei der Agglomeration nicht gesprochen werden kann, die Zitrataufschwemmung normalen Pferdeblutes zeigt jedoch nicht die Anheftung von Blutplättchen, auch wenn Agglomeration vorhanden ist. Hieraus scheint mir doch zu folgen, daß Agglomeration und Blutplättchenreaktion nicht Variationen der gleichen Reaktion sein können.

Ist die Reaktion bedingt durch einen spezifischen Immunkörper, der sich nur im nicht koagulierten Blut befindet, der die Trypanosomen klebrig macht und für die Anheftung der Blutplättchen vorbereitet, oder wird dieses Phänomen bedingt durch Eigenschaften, welche die Blutplättchen immuner Tiere angenommen haben?

Wäre die Blutplättchenprobe durch ein Klebrigwerden der Trypanosomen allein bedingt, so müßte normales Pferdeblutplasma, das die Agglomeration gibt, auch die Blutplättchenprobe geben. Da dieses, wie erwähnt, nicht der Fall ist, müssen wir annehmen, daß zum Zustandekommen der Blutplättchenreaktion außer dem Klebrigwerden der Trypanosomen noch ein anderer Faktor nötig ist. Sehen wir ein Präparat mit positiver Blutplättchenreaktion genau durch, dann finden wir neben den angehefteten Blutplättchen, auch wenn die Reaktion schon weit vorgeschritten ist, immer noch eine große Menge freier, nicht mit Trypanosomen verklebter Blutplättchen. Die Blutplättchen, welche wir in den nach der oben geschilderten Methode hergestellten Präparaten sehen, stammen aus zwei verschiedenen Quellen: 1) Blutplättchen aus dem Blut

des immunisierten Tieres, 2) Blutplättchen von der Maus, die uns die Trypanosomen für die Aufschwemmung geliefert hat (Trypanosomen und Blutplättchen lassen sich nicht leicht voneinander trennen). Da die Reaktion nur auftritt, wenn Blutplättchen vom immunen Tier mit Blutplasma gebraucht wird, und nicht, wenn nur Blutplättchen des die Trypanosomen liefernden Tieres (Maus) und klares Serum anwesend sind, so können wir schließen, daß die angehefteten Blutplättchen von dem immunen Tier stammen, die Reaktion also auch auf einer spezifischen Eigenschaft der Blutplättchen beruht, während die frei gebliebenen Blutplättchen von der die Trypanosomen liefernden Maus stammen.

Es wurde mit folgenden Trypanosomenstämmen die Reaktion ausgeführt: 1) Stamm Hamburg alt, direkt aus dem Hamburger Tropeninstitut bezogen; 2) Stamm Prowazek, von Morgenroth uns freundlichst überlassen, wahrscheinlich von Stamm Hamburg alt vor langer Zeit abgezweigt; 3) Stamm Hamburg recens, das ist der Stamm Hamburg alt, einmal in Daressalam von Schilling durch die *Glossina morsitans* geschickt und dann auf Ratten hierher gebracht; 4) Stamm Siena, wahrscheinlich der alte Stamm Ferox, mit dem Schilling seine Immunisierungsversuche in Berlin gemacht hat, und der inzwischen im Hygienischen Institut in Siena weiter gezüchtet war, von wo ihn uns Prof. Lanfranchi wieder zurückschickte, und 5) Stamm Gnu XII, der in Daressalam abwechselnd durch Glossinen und Säugetier geschickt wird, und den uns Dr. Schreck in Ratten sandte. Es wurden Ratten, wie oben angeführt, vorbehandelt, auch mit Meer-schweinchen und Kaninchen wurden Versuche angestellt, es zeigte sich dabei, daß die Reaktion streng spezifisch war, und nie Gruppenreaktionen auftraten, d. h. sie gelang z. B. niemals mit dem Blut eines von Stamm Prowazek geheilten Tieres einerseits und Trypanosomen vom Stamm Hamburg alt andererseits. Nur dann, wenn die Trypanosomen des zur Vorbehandlung verwendeten Stammes zur Mischung verwendet wurden, war die Reaktion positiv.

Aus meinen Beobachtungen, die ich stets mit dem gleichen Erfolg im Verlauf mehrerer Monate immer wiederholt habe, führe ich nur einige wenige hier an:

Ratte 1 infiziert am 26. III. mit Stamm Prowazek. Vor der Infektion war die B. P. R. negativ. 28. III. Infektion + + +, Heilung mit Tart. stib. 0,35 mg pro 10 g Tier. 30. III. Blut 0. B. P. R. mit Stamm Prowazek negativ. 31. III. B. P. R. schwach +, 2. IV. B. P. R. mit Stamm Prowazek positiv, mit Stamm Hamburg alt, Stamm Siena und recens negativ.

Ratte 2 behandelt wie Ratte 1. 31. III. B. P. R. mit Stamm Prowazek +, 1. IV. + +, mit Stamm Hamburg recens negativ.

Ratte 3 wird infiziert am 4. IV. mit Stamm Siena, vor der Infektion ist die B. P. R. negativ, nach gut ausgebildeter Infektion wird sie am 8. IV. mit Tart. stib. behandelt. 9. IV. Infektion 0. 14. IV. ist die B. P. R. mit Stamm Siena +, mit Stamm Hamburg alt 0, mit Hamburg recens 0.

Diese Versuche zeigen, daß die Reaktion nicht sofort nach der Behandlung auftritt, sondern daß die Reaktionskörper erst nach dem Verschwinden der Trypanosomen gebildet werden. Es fragte sich nun, in welchen Beziehungen die Stoffe, welche die Blutplättchenreaktion verursachen, zu den bereits bekannten Antistoffen stehen, welche im Verlaufe einer Trypanosomeninfektion im Blute des Tieres auftreten. Daß sie mit den die Agglomeration der Trypanosomen verursachenden Stoffen nicht identisch sind, haben wir bereits gesehen. Bekanntlich folgt bei Meerschweinchen und Kaninchen auf die erste lebhaft Vermehrung der Trypanosomen im Blute eine Periode der Verminderung der Parasiten, die sogar völlig aus dem Blute verschwinden können. Nach der Auffassung von Ehrlich ist das kritische Verschwinden und die parasitenfreie Periode auf die im ersten Anfalle gebildeten Antikörper zurückzuführen.

Ein Meerschweinchen, bei dem vor der Infektion die B. P. R. negativ ausfiel, wurde mit Stamm Prowazek am 26. III. infiziert. 31. III. Blutbefund: Infektion angegangen (+), B. P. R. noch negativ. 2. IV. Infektion +. 6. IV. Infektion +, Blutbefund negativ. Die Trypanosomen sind spontan verschwunden, jetzt ist die B. P. R. mit dem Ausgangsstamm Prowazek +, mit den anderen Stämmen negativ.

Am 31. III. wurde von diesem Meerschweinchen am 6. Tage nach der Infektion eine Maus geimpft, die Trypanosomen dieser Maus geben nicht die Blutplättchenreaktion mit Blutplasma von Ratten, die gegen den Ausgangsstamm Prowazek immunisiert sind, und deren Blutplättchen sich an die Trypanosomen des Ausgangsstammes sehr gut anheften; diese 6-tägige Passage im Meerschweinchen, das ja gegen unsere Laboratoriumsstämme gewöhnlich sehr widerstandsfähig ist,

hatte den Trypanosomenstamm schon so geändert, daß er sich durch die Blutplättchenreaktion schon deutlich vom Ausgangsstamm unterschied. Der aus dem Meerschweinchen gezüchtete Stamm verhält sich genau wie im Rezidivstamm, wie der folgende Versuch zeigt.

6 Mäuse werden am 11. VII. mit Stamm Siena infiziert.

Maus	11.	12.	13.	14.	15.	17.	20.	22.	25.	27.	28.	29.	30.
1	alle mit Stamm Siena infiziert	(+)	++	alle, nur No. 6, nicht behandelt	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2		(+)	++		0	0	0	0	0	0	0	0	0
3		(+)	++		0	0	0	0	0	0	0	0	0
4		(+)	++		0	0	0	0	0	0	0	0	0
5		(+)	++		0	0	0	0	0	0	0	0	0
6		(+)	++	+++	+	0	0	0	0	(+)	+	++	+

Am 14. werden 1—5 mit fallenden Dosen Tart. stib. 0,3—0,2 pro 10 g Tier behandelt, No. 6 bleibt als Kontrolle, ist am 15. †.

Blutplättchenreaktion am 29. VII.:

Blutplasma von Maus 1 u. Ausgangstryp. stark ++, mit Rezidivtryp. von Maus 5 vollkommen negativ.

Blutplasma von Maus 2 u. Ausgangstryp. ++, mit Rezidivtryp. von Maus 5 vollkommen negativ.

Blutplasma von Maus 3 u. Ausgangstryp. ++, mit Rezidivtryp. von Maus 5 vollkommen negativ.

Blutplasma von Maus 4 u. Ausgangstryp. ++, mit Rezidivtryp. von Maus 5 vollkommen negativ.

Die Blutplättchenreaktion tritt also mit dem Ausgangsstamm regelmäßig ein, versagt aber, wenn zur Reaktion Plasma von einem Tiere genommen wird, das gegen den Ausgangsstamm immun ist, gegenüber Trypanosomen eines Rezidivstammes. Der Rezidivstamm verhält sich analog dem im obigen Versuch aus dem Meerschweinchen gezüchteten.

Kaninchen am 18. IV. mit Hamburg alt infiziert. B. P. R. vor der Infektion —.

20. IV. Infektion (+); B. P. R. —.

21. IV. Infektion +; B. P. R. —.

22. IV. Infektion —, leichte Agglomeration des Ausgangsstammes; B. P. R. —.

23. IV. Infektion —; B. P. R. angedeutet.

24. IV. Infektion —; B. P. R. mit Stamm Hamburg alt +, mit Stamm Siena —.

28. IV. Infektion +; B. P. R. mit dem Ausgangsstamm +, zwischen den mit Blutplättchen beladenen Trypanosomen befinden sich einzelne

Exemplare, die ganz unbeeinflusst sind und sich sehr lebhaft bewegen. R. P. R. mit Stamm Siena negativ.

Am 24. IV. haben wir gesehen, daß die Blutplättchenreaktion mit dem Ausgangsstamm Hamburg alt + ist; wenn nun nach dem Auftreten des Rezidivs im Kaninchen am 28. IV. sich beim Ansetzen der Blutplättchenreaktion neben den mit Blutplättchen behafteten Trypanosomen auch freie, lebhaft bewegliche befinden, ist es wahrscheinlich, daß die freien aus dem Rezidiv stammen, die beladenen aber dem Ausgangsstamm angehören. Es besteht also auch hier ein Unterschied zwischen Ausgangs- und Rezidivstamm.

Wie beim Meerschweinchen finden wir auch beim Kaninchen nach dem Abklingen des akuten Anfalles die Blutplättchenreaktion.

Versuche, mit Stamm Hamburg recens eine ebenso gute Blutplättchenreaktion regelmäßig zu erhalten, wollten zuerst nicht gelingen. Wie Schilling auf dem tropenmedizinischen Kongreß in Berlin schon mitteilte, hat dieser Stamm ganz andere Eigenschaften als der Ausgangsstamm Hamburg alt. Z. B. werden Mäuse und Ratten nicht mehr akut getötet, sondern diese können nach der Infektion über einen Monat mit Trypanosomen im Blut am Leben bleiben. Zuerst nahm ich zu meinen Versuchen die Tiere wahllos aus der Passage, ohne Rücksicht auf die Dauer der bestehenden Infektion. Erst als die Passage regelmäßig weitergeführt wurde, wenn die Mäuse + bis ++ Trypanosomen im Blute hatten und jedesmal eine größere Menge Blut zur Weiterimpfung benutzt wurde, gelang es mir, den Stamm so zu halten, daß das Blutplasma einer mit Hamburg recens infizierten Ratte nach ihrer medikamentösen Heilung eine positive Blutplättchenreaktion gab, aber auch dann noch fiel es auf, daß hier außer den mit Blutplättchen beladenen Trypanosomen immer noch einzelne zum Teil gut bewegliche Exemplare vorhanden waren, die frei blieben.

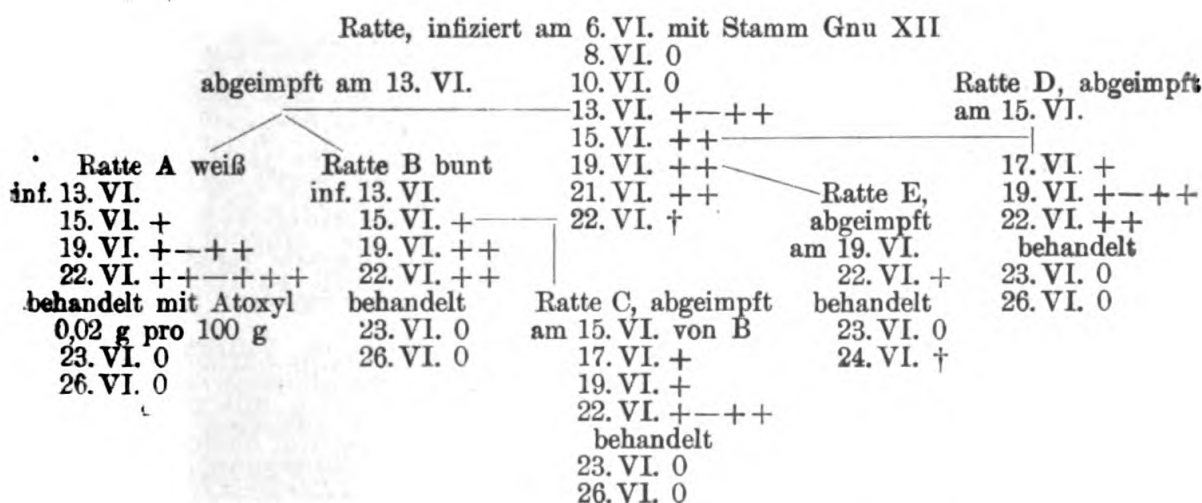
Es muß jedem, der sich mit Trypanosomen und der Wirkung von Arzneimitteln, Seris u. a. auf sie in vitro beschäftigt hat, auffallen, wie so ganz ungleichmäßig die Trypanosomen beeinflußt werden. Stellen wir uns einmal den Verlauf einer Trypanosomeninfektion vor. Nach Oehler ist es möglich,

mit einem Trypanosom zu infizieren, gewöhnlich spritzen wir jedoch eine große Menge Trypanosomen ein; es ist nun anzunehmen, daß bei dieser Infektion schon ein Teil der Trypanosomen beschädigt wird und zugrunde geht, und durch Resorption Anlaß zur Bildung von Antikörpern geben könnte. Bei unseren Laboratoriumsstämmen wird jedoch gewöhnlich die Maus oder Ratte in 3–5 Tagen getötet, in der Zeit können nicht die nötigen Antikörper gebildet werden, um auf die schnell wuchernden Trypanosomen verändernd einzuwirken. Injizieren wir diese Stämme den widerstandsfähigeren Meerschweinchen oder Kaninchen, dann erscheinen die Trypanosomen viel später im Blut. Von den eingepfunden Trypanosomen geht ein Teil zugrunde und gibt Anlaß zur Antikörperbildung, der Rest vermehrt sich, wahrscheinlich anfangs unverändert, aber anscheinend nicht so schnell wie in Ratte und Maus. Durch die, wenn auch nur in Spuren, gebildeten Antikörper als Reaktion auf die resorbierten, beim Impfen abgetöteten Trypanosomen werden dann die späteren Generationen beeinflusst, die Antikörperbildung summiert sich, dem Kampf zwischen Trypanosomen und Antikörper können sich die Trypanosomen scheinbar nicht so schnell anpassen, es kommt zum vorläufigen Siege der Antikörper, die Trypanosomen verschwinden anscheinend, erscheinen nach einigen Tagen wieder, aber durch die kräftige Antikörperbereitung werden alle Trypanosomen beeinflusst.

Ähnlich wie dem Laboratoriumsstamm im Meerschweinchen geht es nun auch dem Stamm Hamburg recens in Maus oder Ratte, nur scheint hier die Antikörperbildung nicht in dem Umfange einzutreten, wie im Meerschweinchen, denn nur selten verschwinden die Trypanosomen für einige Zeit ganz aus dem Blut. Infolge dieser mangelhaften Antikörperbildung scheint dann auch anfangs nur ein Teil der Trypanosomen durch diese Antikörper beeinflusst zu werden, wodurch sich dann auch der erwähnte Ausfall der Blutplättchenreaktion erklären läßt. Wenn diese Annahme sich als richtig erweisen sollte, dann hätten wir auch eine Erklärung, weshalb es Schilling nicht gelang, mit diesem Stamm wie mit den alten Laboratoriumsstämmen zu immunisieren, wir haben es wegen seiner Veränderlichkeit mit einem antigenlabilen Stamm

zu tun. Die verschiedenen Stämme sind in ihrer Variabilität verschieden, die alten Laboratoriumsstämme entwickeln sich in Maus und Ratte so schnell, daß eine nennenswerte Antikörperbildung und dementsprechend auch die Ansätze zur Bildung von Rezidivstammtrypanosomen nicht eintreten, der Stamm bei richtiger Weiterimpfung immer gleichbleibt, während wir bei den neuen Stämmen immer neue Rezidivstämme haben.

Um dies zu beweisen, habe ich folgenden Versuch mit Stamm Gnu XII, der erst im März 1914 durch die Glossine geschickt war, gemacht. Da diese Versuche sich über längere Zeit erstreckten und meine Ratten viel an Enteritis litten und deshalb oft wider Erwarten schnell eingingen, habe ich keinen Versuch ganz durchführen können; und obwohl die Ausschläge nur klein sind, führe ich hier doch einen an.



Von einer Ratte, die am 6. VI. mit Stamm Gnu XII infiziert war, wurden an verschiedenen Tagen Seitenstämme abgezweigt, am 13. VI. Stamm A und B, am 15. VI. Stamm D und am 19. VI. Stamm E, von Stamm B wurde am 15. VI. Stamm C abgezweigt. Am 22. VI. wurden von jedem Stamm Mäuse infiziert, um mit deren Trypanosomen die Blutplättchenreaktion auszuführen, die Ratten wurden gleichzeitig am 22. VI. mit Atoxyl 0,02 g pro 100 g Tier behandelt. Die Trypanosomen verschwanden bei allen Tieren, Ratte E ging leider am 24. VI. interkurrent ein. Die am 22. VI. geimpften Mäuse waren am 26. VI. so gut infiziert, daß kreuzweis die Blutplättchenreaktion mit den geheilten Ratten und den entsprechenden Trypanosomen vorgenommen werden konnte. Die Tabelle zeigt das Resultat.

		Plasma von Ratte			
		A	C	D	Gnu XII
Trypanosomen, gezüchtet in der Maus aus Ratte vom 22. VI.	A	++++-	+++--	+++--	++---
	C	+++--	++++-	+++--	+---+
	D	+++--	+++--	++++-	++---
	E	++---	++---	+++--	+---+
	Gnu XII	++---	++---	+++--	++++-

++++- = die meisten Trypanosomen sind mit Blutplättchen behaftet, nur einzelne frei.

+++-- = viele mit Blutplättchen behaftet, wenige frei.

++--- = ungefähr gleiche Mengen sind behaftet und frei.

+---+ = es finden sich nur ganz vereinzelt mit Blutplättchen behaftete Trypanosomen.

Serum von Ratte A verhielt sich wie das von B, Trypanosomen aus A wie die aus B.

Der Versuch fiel wieder aus wie der angeführte mit Stamm Hamburg recens. Der Unterschied in den einzelnen Präparaten war nicht groß, aber immerhin deutlich wahrnehmbar, obwohl sich der Versuch nur über die kurze Spanne Zeit von 13. VI. bis 19. VI. erstreckte. Ich möchte aus dem Versuch den Schluß ziehen, daß der Stamm nach der Glossinpassage für Ratte und Maus so wenig virulent war, daß diese Tiere erst der Infektion erlagen, wenn die eingimpften Trypanosomen zum größeren oder größten Teil zu Rezidivexemplaren umgebildet waren.

Wenn diese Schlußfolgerung richtig ist, dann hätten wir bei einer länger dauernden Trypanosomeninfektion mit einem schwach virulenten Stamm, die durch kein Heilmittel beeinflusst ist, neben den Ausgangstrypanosomen schon Rezidivtrypanosomen, es würde eine allmähliche Umbildung eintreten, während bei der Beeinflussung durch ein Heilmittel die Umwandlung sprunghaft auf einmal vor sich geht. Bei dem natürlichen Verlauf einer solchen Infektion würde der Körper bei der geringen Virulenz gleich in den ersten Stadien der Infektion eine Anzahl der eingeführten Parasiten abtöten, resorbieren und Antikörper bilden, bei der vorzüglichen Anpassungsfähigkeit der Trypanosomen würde nun der größere Teil sich noch in der ursprünglichen Form fortpflanzen, ein Teil aber durch die vorläufig nur geringe Menge der vorgebildeten Antikörper gleichsam auf ein Nebengleis geleitet werden.

Mit der Zunahme der Antikörper wird die Widerstandskraft des Wirtes so gekräftigt, daß die Vermehrung der ursprünglichen Parasiten erst eingeschränkt wird, dann ganz aufhört, während die schon angepaßten Parasiten (Rezidivformen) nun allmählich in größerem Maße heranwachsen und an die Stelle der ersteren treten. So können wir uns wohl das Schwanken der Trypanosomenzahl im Blute der Tiere erklären, die, natürlich individuell bei den einzelnen Tieren, je nach der Widerstandsfähigkeit verschieden ist, ja manchmal ein völliges Freiwerden von Trypanosomen vortäuschen kann.

Die Blutplättchenreaktion verlief nach meinen Versuchen regelmäßig glatt bei den Stämmen Prowazek, Siena und Hamburg alt, nicht ganz regelmäßig bei Hamburg recens und Gnu XII, bei diesen Stämmen blieben gewöhnlich einige Trypanosomen unbeeinflußt. Durch diese Reaktion kann man die einzelnen Laboratoriumsstämme auseinanderhalten und auch bei dem gleichen Stamm einen Unterschied feststellen zwischen Mäusepassagestamm (Ausgangsstamm) und Rezidivstamm.

Die Versuche mit Stamm Hamburg recens und Stamm Gnu XII haben gezeigt, daß ein Ausschlag auch bei frischen Stämmen, die aber schon einige Zeit durch Ratten fortgeführt waren, zu erzielen ist. Wenn dieser Ausschlag auch nicht so deutlich ist, wie bei den alten Laboratoriumsstämmen, so ist er doch immerhin gut wahrnehmbar.

Vielleicht ist es möglich, mit dieser Reaktion und direkter Glossinenpassage die Frage der Einteilung der Arten der Trypanosomen zu bearbeiten und die epidemiologisch wichtige Frage zu lösen, ob die Schlafkrankheit praktisch nur durch Glossinen übertragen wird oder auch durch Kontaktinfektion.

Aber auch sonst, wenn die Reaktion bei den angeregten Fragen versagen sollte, könnte diese Beobachtung uns schon dadurch einigen Nutzen schaffen, daß sie uns auf ein Gebiet der Immunitätsforschung wieder zurückführt, das in letzter Zeit etwas in den Hintergrund getreten ist, nämlich auf die Bedeutung der Blutplättchen bei Infektionskrankheiten. Daß die Blutplättchen eine Bedeutung haben, zeigt uns außer dem beschriebenen Phänomen das Blutbild bei Malaria, Piroplasmose etc.

Wie ich schon bemerkte, habe ich keine ähnliche Mitteilung in der Literatur finden können, doch scheint eine Beziehung zu bestehen zu der Immunreaktion, die Neumann und Rosenthal in Morgenroths Laboratorium zuerst eingehend untersuchten. Sie fanden, daß Mäuse, die mit Mäusestamm Prowazek infiziert und dann geheilt waren, gegen eine neue Infektion mit dem Ausgangsstamm immun waren, während die so immunisierten Tiere von einem Rezidivstamm so schnell infiziert wurden wie die Kontrollen, und umgekehrt waren Mäuse, die gegen den Rezidivstamm immunisiert waren, unempfindlich für eine Reinfektion mit dem benutzten Rezidivstamm, während sie gegen den Ausgangsstamm keine Schutzstoffe gebildet hatten. Immunität trat in den Fällen ein, in denen nach meinen Versuchen die Blutplättchenreaktion positiv ausfallen würde. Zwischen der Blutplättchenreaktion und der Immunität scheint also eine Beziehung zu bestehen, und es wäre zu versuchen, ob sich vielleicht die Immunitätsprüfung nach Neumann-Rosenthal, die ein großes Tiermaterial verlangt, durch die einfachere und schneller ausführbare Blutplättchenreaktion ersetzen läßt. Aus äußeren Gründen war ich verhindert, diese Versuche selbst durchzuführen.

Zusammenfassung.

Im Blute mit experimenteller Trypanosomiasis infizierter und danach geheilter oder chronisch infizierter Laboratoriumstiere lassen sich Reaktionskörper nachweisen, die sich dadurch kund tun, daß Trypanosomen einer Ratte oder Maus in einer Zitratblutaufschwemmung dieser Tiere mit Blutplättchen beladen werden.

Diese Erscheinung ist streng spezifisch, sie tritt nur ein, wenn zur Reaktion der homologe Trypanosomenstamm benutzt wird.

Durch diese Reaktion ist Ausgangsstamm von Rezidivstamm zu unterscheiden. Die Reaktion tritt in allen denjenigen Fällen auf, in denen eine Immunität gegen Reinfektion bestehen würde.

Nachdruck verboten.

[Aus dem k. u. k. Militärbeobachtungsspital No. I in Troppau.]

Die wichtigsten immunbiologischen Erfahrungen über Typhusdiagnostik und Typhusschutzimpfung im Kriege.

Von Dr. Wilhelm Müller-Wien,

ehemaligem Assistenten am Institut für Immunitätsforschung zu Hamburg-Eppendorf, zurzeit Abteilungsarzt und Konsiliararzt für Lungenkrankheiten am Lazarett.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Juni 1916.)

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Immunitätswissenschaft in bezug auf den Abdominaltyphus im Krieg gefördert worden ist.

I.

Die ersten diesbezüglichen Erfahrungen entfallen auf das Gebiet der biologischen Diagnostik und beschäftigen sich mit der Gruber-Widalschen Reaktion, mit ihrer Verwertbarkeit für die Diagnostik und mit ihrer Spezifität.

Kellermann, Dünner und Wolff-Eisner waren die ersten, welche dieses Problem ins Rollen gebracht haben, indem sie den Nachweis erbrachten, daß die Typhusschutzimpfung in ca. 10 Tagen eine positive Gruber-Widalsche Reaktion zur Folge hat. Zahlreiche Beobachtungen anderer Autoren, wie vor allem von Gaechtgens, Ziersch, Reiß, Hirschbruch, Kühl, Hage und Korff-Petersen u. a., haben das bestätigt und erwiesen, daß der Gruber-Widalschen Reaktion bei typhusschutzgeimpften Personen keine diagnostische Beweiskraft mehr zuerkannt werden kann. Auch die Verschiebung des alten Schwellenwertes von 1:100 auf höhere Werte, die von Stursberg und Klose als Funktion der einverleibten Impfstoffmenge angesprochen wurden, zu denen sich der Agglutinationstiter der Krankheit hinzugesellen sollte, konnten die Verwendbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion nicht retten.

Die Nachprüfungen, die mit deutschen und österreichischen¹⁾ Impfstoffen vorgenommen wurden, haben nicht nur ganz andere Agglutinationswerte als Funktion der einverleibten Impfstoffmenge bei Gesunden festgestellt als Stursberg und

1) Die Versuche von Stursberg und Klose beziehen sich auf französische Soldaten.

Klose, sondern auch bei geimpften Typhuskranken die geforderte Hinzuaddierung zu dem durch die Schutzimpfung bedingten Schwellenwert der Agglutination vermissen lassen.

Stursberg und Klose stellten folgende Tabelle auf, in der sie bei geimpften nicht typhuskranken Franzosen die nachfolgende Agglutinationskala in Beziehung zur Menge des einverleibten Impfstoffes brachten: „Es ergaben sich für Typhus

bei 1 Einspritzung	Werte von	1:200—1:500
„ 2 Einspritzungen	„ „	1:500—1:1000
„ 3 „	„ „	1:1000
„ 4 „	„ „	1:1000—1:5000.“

In der zitierten Arbeit heißt es unter anderem: „Beim Nachweis hoher Werte wird man auch stets die Möglichkeit eines bereits überstandenen Typhus in Rechnung zu setzen haben. So finden sich bei den als verdächtig in Beobachtung genommenen geimpften Gefangenen mehrfach hohe Agglutinationszahlen, die wahrscheinlich durch einen überstandenen Typhus leichter Art bedingt waren.“

Das ist eine Vermutung, welche sich durch Tatsachen nicht stützen läßt. Meine diesbezüglichen Beobachtungen, welche ich auf einer österreichischen Typhusrekoneszentenstation in Troppau gemacht habe, erstrecken sich auf 26 Fälle, welche sämtlich 3mal gegen Typhus geimpft waren und die alle Typhus durchgemacht hatten. Von diesen erreichte auch nicht ein einziger den von den beiden Autoren postulierten Wert der 3. Injektion, geschweige denn den entsprechenden, durch Ueberstehen des Typhus bedingten Höherwert der Agglutination. 10 der Fälle agglutinierten unter 1:50, einer 1:50, 6 1:100, 4 1:200, 2 1:400 und 3 1:800. Die Zeitverhältnisse dabei gestalteten sich wie in Tabelle I angegeben.

Ob diese für Stursberg und Kloses Hypothese sicherlich verblüffend tiefen Agglutinationswerte lediglich als eine Funktion der Zeit oder vielleicht als scheinbar paradoxe Wirkung der Kombination von Schutzimpfung und Ueberstehen des Typhus anzusprechen sind, ist schwer zu entscheiden. An der Außerachtlassung der Zeit mußte die Dignität der Stursberg-Kloseschen Forderungen in erster Linie scheitern, wie denn auch bereits verschiedene Autoren, allerdings nur vermutungsweise, auf diesen Punkt aufmerksam gemacht haben, ohne ihre Ansicht durch Belege zu stützen. Niemand hat

Tabelle I.

Prot.-No.	No.	Zeitpunkt der Typhusschutzimpfungen	Zeitpunkt des überstandenen Typhus (Fieberstadium)	Zeitpunkt der ausgeführten Gruber-Widal-schen Reaktion	Agglutinationswert für Typhus
25 316	1	März 1915	5. Juni–10. Juli 1915	22. Sept. 1915	unter 1:50
25 321	2	Jan. 1915	28. Mai–28. Juli 1915	22. „ „	„ 1:50
25 328	3	März 1915	24. Mai–Anf. Aug. 1915	22. „ „	„ 1:50
25 326	4	April 1915	13. Juni–Anf. Aug. 1915	22. „ „	„ 1:50
23 806	5	Jan. 1915	25. Mai–25. Juli 1915	8. „ „	„ 1:50
23 805	6	Feb. u. Apr. 15	3. Juni–Ende Juni 1915	8. „ „	„ 1:50
25 315	7	April 1915	6. Juni–Mitte Juli 1915	22. „ „	„ 1:50
25 311	8	Mai 1915	1. Juli–21. Juli 1915	22. „ „	„ 1:50
24 692	9	März 1915	24. Juni–Mitte Juli 1915	28. „ „	„ 1:50
24 686	10	Mai 1915	20. Juni–7. Juli 1915	28. „ „	„ 1:50
25 322	11	Mai 1915	31. Mai–31. Juni 1915	22. „ „	1:50
25 323	12	April 1915	6. Juni–6. Juli 1915	22. „ „	1:100
23 804	13	Sommer 1915	25. Mai–1. Juli 1915	8. „ „	1:100
24 687	14	Sommer 1915	24. Juni–24. Juli 1915	28. „ „	1:100
24 689	15	Mai 1915	27. Juni–27. Juli 1915	28. „ „	1:100
25 319	16	März 1915	12. Juli–Ende Juli 1915	22. „ „	1:100
25 325	17	Juni 1915	30. Juni–21. Juli 1915	22. „ „	1:100
25 327	18	Febr. 1915	6. Juni–20. Juli 1915	22. „ „	1:200
25 317	19	April 1915	24. Mai–Anf. Juli 1915 + Cholera Juli	22. „ „	1:200
25 324	20	Juni 1915	15. Juni–Ende Juli 1915	22. „ „	1:200
25 320	21	Mai 1915	16. Juni–15. Juli 1915	22. „ „	1:200
24 688	22	März 1915	18. Juli–1. Sept. 1915	18. „ „	1:400
25 314	23	Jan. 1915	26. Mai–24. Juli 1915	22. „ „	1:400
25 318	24	Juni 1915	23. Juni–13. Juli 1915	22. „ „	1:800
23 807	25	Febr. 1915	15. Juni–15. Juli 1915	8. „ „	1:800
25 313	26	Mai 1915	Ende Mai–Ende Juni 1915	22. „ „	1:800

jedoch meines Wissens die Behauptungen Stursbergs und Kloses, die sie in ihrer Tabelle in No. 11 der Münch. med. Wochenschrift auf p. 382 aufgestellt haben, sorgfältig nachgeprüft, Behauptungen, in denen ich eine *petitio principii* anzunehmen geneigt bin, da sie die zeitlichen Verhältnisse gänzlich außer acht lassen. Ich glaube daher, daß diese Autoren auf Grund ihrer abgestuften Impflagglutinations-schwellenwerte irgendwo gefundene Titerwerte bei Typhuserkrankungen hypothetisch und nicht real miteinander in Beziehung bringen. Jedenfalls geht eine reale Beziehung zwischen den gefundenen Agglutinationswerten und den der Einspritzungszahl der Typhusschutzimpfung entsprechenden Schwellenwerten aus der aufgestellten Tabelle nicht mit Notwendigkeit hervor. So beschränken sich denn auch die übrigen Autoren, wie Reiß u. a., vorzüglich auf eine Polemik der

5*

ImpfSchwellenwerte, indem sie stillschweigend voraussetzen, daß diese durch späteres Ueberstehen eines Abdominaltyphus nach Stursberg-Klose in entsprechender Weise überschritten würden.

Dies ist jedoch, wie ich durch meine Untersuchungen einwandfrei dargetan habe, nicht der Fall. Von den 26 zitierten Fällen, die alle 3mal gegen Typhus geimpft waren und obendrein Abdominaltyphus hatten, gaben im ganzen 10 überhaupt keine positive Gruber-Widalsche Reaktion; von den übrigen erreichte keiner den Schwellenwert 1:1000, was ja eigentlich auch nicht zu verwundern ist, da die Impfungen zumeist sehr weit zurückliegen. Aber schon die bloße Gesetzmäßigkeit der Agglutinationsschwellenwerte nach Ausführung der Schutzimpfung war ein Phantom. Dünner, Hohlweg, Hage und Korff-Petersen und Reiß haben sehr richtig bemerkt, daß die Höhe des Agglutinationstitors einer großen Zahl variierender Faktoren unterworfen sei und daß von einer Konstanz gar nicht die Rede sein könne. Vorausgesetzt selbst exaktes und quantitatives Einverleiben des Impfstoffes, muß man doch immer die Verschiedenheit des Vaccins und seiner Zubereitung, die individuelle immunbiologische Reaktionsweise des Organismus, die Rasseneigentümlichkeit und das Alter des Patienten als sehr variable Größen bei der Beeinflussung des Titors in Betracht ziehen. An dieser Tatsache scheitert meines Erachtens auch der Versuch Hirschbruchs, der die Gruber-Widalsche Reaktion bei schutzgeimpften, an Typhus erkrankten Personen für Typhus beweisend ansieht, sofern bei zwei- oder mehrmaliger Vornahme der Gruber-Widalschen Reaktion in Zeitintervallen von mindestens je 3 Tagen eine Steigerung des Titors eintritt. Außerdem müßten diese Untersuchungen immer in die Zeit der Agglutininvermehrung im Blut fallen, wenn sie beweiskräftig sein sollten. Das ist aber sehr häufig nicht der Fall. Die Wirklichkeit ist der wissenschaftlichen Begründung von der Unbrauchbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion bei Typhusschutzgeimpften gefolgt, indem ihre Anwendung bereits seit Monaten aus der Typhusdiagnostik der Seuchenlazarette verschwunden ist.

II.

Nicht allein das Phänomen der Mitagglutination, sondern auch die Tatsache, daß, nach den äußerst beachtenswerten Untersuchungen Stubers, eine ganze Anzahl nichtspezifischer Faktoren imstande sind, eine positive Gruber-Widalsche Reaktion zu erzeugen, muß das Interesse des Immunitätsforschers aufs lebhafteste erregen. Damit gelangen wir zur Frage der Spezifität der Gruber-Widalschen Reaktion.

Auch auf diesem Gebiete hat die Immunitätswissenschaft des Abdominaltyphus während des Krieges schöne Beiträge gezeitigt. Stuber gelangt auf Grund seiner experimentellen Studien über die Gruber-Widalsche Reaktion am Menschen zu dem Schluß, daß außer den Zerfallsprodukten der Typhusbacillen die Bakterienfette einer ganzen Reihe pathogener Mikroorganismen, wie vor allem der Diphtherie- und Tuberkelbacillen, sowie der Staphylokokken als Erzeuger einer positiven Gruber-Widalschen Reaktion in Betracht kommen. Stuber konnte mit den Fettemulsionen von Typhusbakterien Agglutinationswerte bis zu 1:1600 beobachten, während die anderen Bakterienfette Typhusbacillen allerdings nur bis zum Werte von 1:600 agglutinierten. Immerhin sind dies respektable Werte, die bei Typhusdiagnose als beweisend gelten. Andererseits stellte Stuber positive Gruber-Widalsche Reaktion bei Individuen mit einer Sympathicusneurose, bei vasomotorisch labilen und nervösen Menschen fest. Er spritzte Neurasthenikern mit negativem Widal ein Sympathicusreizmittel, z. B. 10-proz. Kochsalzlösung, ein und konnte damit einen Agglutinationstiter bis zu 1:320 erzeugen. Durch wechselnde Dosierung der Bakterienfette und durch die eben erwähnten Versuche kam er zur Ueberzeugung, daß quantitative Vorgänge beim Zustandekommen der Gruber-Widalschen Reaktion, abgesehen von chemisch wichtigen Faktoren, eine große Rolle spielen. Beim Abdominaltyphus scheint ihm das Zustandekommen der Agglutination in erster Linie durch die Anwesenheit von Fettsubstanzen gegeben zu sein.

Wie Wolff-Eisner und später Gaechtgens betont haben, ist die Gruber-Widalsche Reaktion auch in anderen Fällen häufig nicht verwendbar. Dies gilt da, wo wir es mit typhusähnlichen Erkrankungen, insbesondere mit der Bacillenruhr zu tun haben, wo sehr häufig ein positiver Widal aufzutreten pflegt. Dieses Phänomen der Gruppenagglutination konnte während des Krieges nicht selten festgestellt werden. Die überwiegende Mehrzahl der von Wolff-Eisner untersuchten Ruhrkranken, sowie Patienten mit hämorrhagischer Colitis, wo keine Dysenteriebacillen nachzuweisen waren, hatten einen Agglutinationstiter bis 1:200 für Typhus. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangt Marek, der bei infektiösen Colitiden meist positive Gruber-Widalsche Reaktion fand und infolgedessen vor der diagnostischen Brauchbarkeit bei solchen, dem Typhus ähnlich sehenden Erkrankungen warnt.

Diese Fälle sind deshalb so verhänglich, weil sie, bei häufig negativem Agglutinationsbefund für Dysenterie, positive Widalsche Reaktion aufweisen.

Auch Gaechtens gibt drastische Beispiele für das Phänomen der Gruppenagglutination. Er fand bei einer Y-Epidemie Mitagglutination nicht nur von Typhusbacillen, sondern auch von Paratyphus B-, Flexner-, Shiga-Kruse- und Gärtnerbacillen.

Soldin machte gelegentlich einer Y-Ruhrepidemie die Erfahrung, daß die Mitagglutination für Typhus häufig im Beginn der Erkrankung konstatiert werden kann. Aber auch bei Tuberkulose und bei Staphylokokkenkrankheiten wird mitunter positive Widalsche Reaktion beobachtet. So konnte Blaßberg bei einem Fall von Miliartuberkulose, der außerdem Typhusbacillen im Pleurapunktat aufwies, einen Agglutinationswert von 1:160 für Typhus feststellen. Klinisch waren keine Anzeichen für Typhus vorhanden.

Alle diese Erfahrungen aber lehren uns, der Gruber-Widalschen Reaktion nicht mehr jene strenge Spezifität für den Abdominaltyphus beizumessen wie bisher, sondern sie im wesentlichen als eine biologische, durch chemische Bakterienbestandteile bedingte Reaktion der verschiedenartigsten infektiösen Erkrankungen aufzufassen, von denen der Abdominaltyphus das größte Kontingent der Fälle liefert. Die klinische Verwendbarkeit der Reaktion im Kriege ist aus den besagten Gründen auf ein Mindestmaß reduziert worden und muß auch künftighin mit noch größerer Reserve beurteilt werden.

Von verschiedenen Seiten wurden nun Vorschläge zum Ersatz der Gruber-Widalschen Reaktion gemacht.

Felke hält die Komplementablenkungsmethode für eine zuverlässige Reaktion zur Unterscheidung zwischen den Seren Typhuserkrankter und gegen Typhus Geimpfter. Er konnte bei Geimpften trotz positiven Widals niemals eine Hemmung der Hämolyse beobachten, während bei Typhuskranken in gewissen Stadien Komplementablenkung mit großer Regelmäßigkeit auftreten soll. Seine Erfahrungen beschränken sich allerdings nur auf 9 Fälle. Auch läßt er die Frage offen, ob diese Typhuskranken geimpft oder nicht geimpft waren. Der Ersatz der Gruber-Widalschen Reaktion hat es aber vorzüglich mit der Unterscheidung gesunder Geimpfter und gegen Typhus geimpfter Erkrankter zu tun. Die Untersuchungen Hages und Korff-Petersens weisen übrigens nach, daß auch bei Geimpften Komplementablenkung gar keine Seltenheit ist und daß die Hämolyse nur unmittelbar im Anschluß an die Impfung, wo

noch keine spezifischen Immunkörper gebildet sind, erfolgt. Auch bei Typhus wird die Komplementablenkung in der ersten Woche häufig vermißt. Wagner macht im wesentlichen den gleichen Vorschlag wie Hirschbruch, indem er einen rasch ansteigenden agglutinatorischen Titer als Kriterium für das Bestehen eines Typhus ansieht. Er verwendet die Fickersche Modifikation der Agglutination und will sie zur Unterscheidung zwischen Typhus und ruhrartigen, dem Typhus oft ähnlich sehenden Erkrankungen herangezogen wissen. Auch dieses Verfahren vermag den Ersatz aus früher namhaft gemachten Gründen nicht zu leisten. Beachtenswerte Einblicke in das Immunitätsbild Typhuskranker, Schutzgeimpfter und Rekonvaleszenten verschaffen die Versuche Pulays, der, in Anlehnung an Wolff-Eisner, Link, Deehan, Goodman, Floyd und Fernet und in neuerer Zeit an die Bestimmungen Gays und Forces in Kalifornien mittels „Typhin“-Kutanimpfungen gewisse Unterschiede des zellulären Hautreaktionsbildes festlegt. Die Versuche wurden mit einer Glycerinbouillonaufschwemmung einer 48-stündigen Kultur von Typhusbacillen, dem sogenannten „Typhin“, ausgeführt. Durch Skarifikation der Haut erzielte Pulay nach Einträufeln des Typhins bei Typhuskranken, Rekonvaleszenten und Gesunden innerhalb der ersten 24 Stunden zumeist eine deutliche Hautreaktion, welche nach 48 Stunden bei Gesunden in der Regel völlig abgeblaßt, bei Kranken und Geimpften jedoch noch am 3.—4. Tage mit entsprechender Abnahme der Intensität erhalten war.

Mit diesen Ergebnissen gelangt man wohl zu einem Einblick in das Immunitätsbild Gesunder und mit Typhustoxinen überschwemmter Individuen, doch auch die Typhinreaktion kann keine Unterscheidung zwischen schutzgeimpften Gesunden und schutzgeimpften an Typhus Erkrankten machen. Vielleicht würde eine Intrakutanimpfung mit Partialantigenen des Typhusbacillus in dieser Hinsicht wertvolle Aufschlüsse erteilen können.

Bis heute jedoch ist es nicht gelungen, eine einwandfreie, praktisch leicht zu handhabende Methode zu ermitteln, die den Verlust der Gruber-Widalschen Reaktion ersetzen könnte und imstande wäre, auf immunanalytischem Wege bei typhusschutzgeimpften Menschen die Diagnose Typhus mit Sicherheit zu stellen.

III.

Typhusschutzimpfung und spezifische Vaccinationstherapie unterscheiden sich dadurch, daß die abgetöteten,

allerdings häufig verschieden zubereiteten Typhusbacillen im einen Falle dem gesunden, im anderen dem kranken Organismus einverleibt werden. Die Literatur über dieses wichtige Kapitel der Immunitätswissenschaft ist während des Krieges eine recht ansehnliche geworden. Was die Schutzimpfung anbelangt, so wollen wir in den Vordergrund unserer Betrachtung ihre Bedeutung als eine aktive Immunisierung des Organismus stellen.

Die praktische Einführung der Typhusschutzimpfung erfolgte im Burenkrieg durch Wright, der als Impfstoff abgetötete Bouillonkulturen von Typhusbacillen verwandte. Statistische Erhebungen ergaben eine Abnahme der Erkrankungen um 50 Proz. Im deutsch-südwestafrikanischen Krieg sank die Mortalitätsziffer der an Typhus erkrankten und 2—3mal Schutzgeimpften Deutschen auf 4,03 Proz. gegen 12,8 Proz. der Ungeimpften. Auch in der englischen und amerikanischen Armee wurde die Schutzimpfung schon vor dem Kriege mit angeblich gutem Erfolg durchgeführt. Das Morbiditätsverhältnis zwischen Geimpften und Ungeimpften in der englischen Armee betrug 3 Proz. zu 0,5 Proz., das Mortalitätsverhältnis 0,5 Proz. zu 0,05 Proz., und in der amerikanischen 3—7 Proz. zu 0,82 Proz. und 0,9 Proz. zu 0,097 Proz. Das sind Werte, die zugunsten der Schutzimpfung sprechen. Nach Vincent sollen die Erfolge der prophylaktischen Vaccination auch in der französischen Armee außerordentlich günstige sein. Feistmantel spricht sich auf Grund seiner 8-jährigen Tätigkeit in Persien sehr günstig über die Erfolge der Typhusschutzimpfung aus. Kühl, dessen Beobachtungen aus einem deutschen Feldlazarett stammen, glaubt, daß in manchen Fällen die Krankheit dank der Typhusschutzimpfung einen leichteren Verlauf nehme. Auch Dieudonné äußert sich günstig über sie. Sinnhuber berichtet, daß von 444 Typhusfällen in Königsberger Lazaretten 55 gegen Typhus geimpft waren. 2 von den Geimpften seien gestorben; er äußert sich im ganzen skeptisch und überläßt die Beurteilung des Impfwertes einer späteren zusammenfassenden Statistik.

Wenn man sich in der einschlägigen Literatur nach der Dauer der Schutzwirkung umsieht, so hüllen sich die meisten Autoren in Schweigen.

Feistmantel z. B. sagt: „man“ nehme ein Jahr an. Schulze äußert sich unbestimmt über die Dauer des Schutzes. Auch Kossel läßt die Frage der Dauer schwebend und sagt: „man“ rechne mit der Dauer von einem Jahr.

Im Grunde wundere ich mich, daß bis jetzt noch so wenig positive Resultate über diesen Gegenstand vorliegen. Wenn

ich in diesem Zusammenhange meine eigenen diesbezüglichen Erfahrungen veröffentliche, so geschieht dies erstens aus Interesse für diese außerordentlich wichtige Frage, zweitens aus der Ueberzeugung, daß auch Mißerfolge zur Klärung des Problems beitragen und an dem anerkannten Wert der Schutzimpfung nicht zu rütteln vermögen, und drittens, um damit die einzig gangbare Methode zur Bestimmung der Dauer der Wirksamkeit einer künstlichen Schutzimpfung überhaupt darzulegen. Daß der Impfschutz kein vollkommener ist, bleibt unbestreitbare Tatsache; daß ein Teil der an Typhus nicht Erkrankten dank der Impfung gesund blieben, ist mit Wahrscheinlichkeit anzunehmen. Es wäre ein Beweis von höherer Stringenz nur experimentell zu liefern, indem man Schutzgeimpfte und nicht geimpfte Personen in bestimmten Zeitabschnitten künstlich einer Infektion mit Typhusbacillen aussetzte und die Resultate vergliche. Auch eine große Statistik vermag wertvolle Zahlen, aber keine Aufschlüsse von apodiktischer Sicherheit über die Schutzwirkung zu liefern. Was nun die Dauer der künstlichen Immunisierung anlangt, so muß sie praktisch selbstverständlich an einem Material geprüft werden, das trotz der Impfung erkrankt ist. Je größer das Material, desto genauer werden die Einblicke in die ungeheuer verschiedenen Immunitätsverhältnisse der einzelnen Menschen sein. Daß aber die Gerüchte von der Dauer einer einjährigen Schutzwirkung nach dreimaliger Impfung mit aller Entschiedenheit in das Reich der Fabel zu verweisen sind, das, glaube ich, sollten die sorgfältigen zeitlichen Angaben über Impfung und Ausbruch der Krankheit bei den nun zu erwähnenden Fällen geben, die ich in einem österreichischen Lazarett zu sammeln Gelegenheit hatte. Es handelt sich hier um 130 Fälle, welche sämtlich mindestens 2mal, zumeist aber 3mal mit österreichischem Vaccin gegen Typhus geimpft waren und trotzdem mehr oder weniger schwer an Typhus erkrankten. Auf Grund der nachstehenden Tatsachen soll erörtert werden, daß man an die Frage des Impfschutzes überhaupt in Einzelfällen erst dann herantreten kann, wenn man über seine Dauer etwas ausgesagt hat, denn er ist in jedem Fall eine Funktion der Zeit.

Tabelle II.

No.	Monat der Impfung	Datum der Erkrankung (Fieberstadium)	Tage nach der Impfung	No.	Monat der Impfung	Datum der Erkrankung (Fieberstadium)	Tage nach der Impfung
1	Mai	16. VI.—20. VII.	34	52	Juli	1. V.—24. VII.	54
2	März	10. VII.—30. VII.	20	53	Juli	20. V.—26. VI.	37
3	Mai	14. V.—30. VI.	47	54	August	23. V.—30. VI.	38
4	Januar	25. VI.—2. VII.	7	55	Juni	1. IV.—1. VI.	61
5	Februar	18. VI.—30. VII.	42	56	Januar	1. VI.—2. VII.	31
6	März	18. VI.—20. VII.	32	57	Oktober	9. VI.—10. VII.	31
7	März	1. IV.—31. VIII.	153	58	April	16. VI.—20. VII.	34
8	April	20. VI.—11. VIII.	52	59	März	1. VI.—6. VII.	35
9	Mai	1. VI.—30. VII.	66	60	März	13. VII.—31. VII.	18
10	April	13. VI.—30. VII.	47	61	Februar	22. VI.—30. VII.	38
11	April	28. V.—4. VII.	37	62	Juni	6. VI.—7. VII.	31
12	Juni	13. VI.—30. VII.	47	63	Juni	22. VI.—30. VII.	38
13	März	1. VI.—16. VII.	46	64	April	15. V.—30. VI.	46
14	Februar	2. V.—20. VII.	79	65	April	1. VI.—24. VII.	53
15	Mai	11. VI.—15. VII.	34	66	April	6. VI.—26. VII.	50
16	März	26. IV.—10. V.	15	67	März	1. VI.—24. VI.	53
17	Februar	1. V.—20. VII.	80	68	März	6. VI.—16. VII.	40
18	Juni	7. VI.—4. VII.	27	69	Februar	8. VI.—10. VII.	32
19	Februar	4. VI.—30. VI.	26	70	Mai	18. V.—12. VII.	55
20	Februar	7. VI.—30. VI.	23	71	Mai	6. VI.—17. VII.	41
21	Mai	17. V.—26. VI.	40	72	März	28. V.—30. VII.	63
22	Mai	20. V.—25. VI.	36	73	Mai	16. VIII.—1. IX.	16
23	Juni	26. VI.—30. VII.	34	74	Mai	30. V.—30. VI.	31
24	Mai	9. VI.—12. VII.	33	75	Juni	6. VI.—1. VII.	25
25	Juni	1. VII.—14. VIII.	45	76	Juni	3. VI.—16. VII.	43
26	Juni	13. VI.—4. VIII.	52	77	Juni	14. VI.—20. VII.	36
27	Juni	4. VI.—16. VII.	42	78	April	3. VI.—24. VII.	51
28	Mai	26. V.—24. VI.	29	79	April	12. VI.—24. VII.	42
29	Mai	6. V.—14. VI.	49	80	Juni	10. VI.—15. VII.	35
30	Mai	10. V.—4. VII.	55	81	Mai	9. VI.—26. VIII.	78
31	Mai	25. V.—30. VII.	66	82	April	22. II.—16. V.	83
32	Juni	5. VI.—25. VII.	50	83	November	20. VI.—26. VII.	36
33	Februar	18. V.—30. VI.	43	84	März	24. VI.—30. VII.	36
34	Februar	7. VII.—20. VIII.	44	85	März	20. VI.—30. VII.	40
35	Mai	16. V.—30. VI.	45	86	Mai	25. VI.—4. VIII.	40
36	März	22. II.—26. IV.	63	87	Mai	27. VI.—1. VIII.	35
37	Februar	20. II.—4. V.	73	88	Mai	24. V.—10. VII.	47
38	Mai	7. V.—30. VI.	54	89	Mai	1. VII.—1. VIII.	31
39	Juni	13. VI.—30. VII.	47	90	Mai	14. V.—28. VII.	75
40	März	1. VI.—26. VII.	56	91	April	6. VI.—20. VII.	44
41	Februar	13. II.—8. V.	84	92	April	17. VI.—30. VI.	13
42	Januar	6. VI.—28. VII.	52	93	Februar	9. VI.—27. VII.	48
43	April	13. V.—24. VIII.	103	94	März	5. VI.—16. VII.	41
44	Februar	13. III.—20. VII.	129	95	Januar	26. V.—24. VII.	59
45	April	5. V.—30. VI.	56	96	Juni	13. VI.—14. VII.	31
46	Juni	7. VI.—31. VII.	54	97	Juni	15. VI.—1. VIII.	47
47	Mai	1. VI.—24. VII.	53	98	Mai	30. VI.—26. VII.	26
48	Februar	13. VI.—14. VII.	31	99	Januar	7. VI.—10. VIII.	64
49	Januar	14. VI.—20. VII.	36	100	Mai	16. VI.—20. VII.	34
50	Mai	5. VI.—26. VII.	51	101	Mai	14. V.—30. VI.	47
51	Mai	1. VI.—30. VI.	59	102	Mai	4. VI.—30. VII.	56

No.	Monat der Impfung	Datum der Erkrankung (Fieberstadium)	Tage nach der Impfung	No.	Monat der Impfung	Datum der Erkrankung (Fieberstadium)	Tage nach der Impfung
103	Februar	10. VI.—30. VII.	50	117	Juli	24. VI.—24. VII.	30
104	April	13. VI.—28. VII.	45	118	April	6. VI.—6. VII.	30
105	April	6. VI.—8. VII.	32	119	Mai	31. V.—30. VI.	30
106	Februar	15. VI.—15. VII.	30	120	Mai	20. VI.—7. VII.	17
107	Juni	13. VI.—13. VII.	30	121	Mai	1. VII.—21. VII.	20
108	Januar	26. V.—24. VII.	59	122	Febr. u. April	3. VI.—30. VI.	27
109	März	18. VII.—1. IX.	45	123	März	24. V.—1. VIII.	69
110	Mai	16. VI.—15. VII.	29	124	Januar	28. V.—28. VII.	61
111	Juni	15. VI.—31. VII.	46	125	März	5. VI.—10. VII.	35
112	Mai	24. V.—1. VII.	38	126	Januar	25. V.—25. VI.	31
113	Februar	6. VI.—20. VII.	44	127	April	13. VI.—25. VII.	42
114	Juni	30. VI.—21. VII.	21	128	April	6. VI.—11. VII.	35
115	März	12. VII.—31. VII.	19	129	März	24. VI.—15. VII.	21
116	Mai	27. VI.—27. VII.	30	130	Januar	25. V.—1. VII.	37

Wie zu ersehen ist, vermag man zwischen dem Termin der Schutzimpfung und dem Ausbruch der Erkrankung keinen gesetzmäßigen Zusammenhang zu konstatieren. Immerhin verdient die Beobachtung einiger Autoren Beachtung, wonach ein gewisser Prozentsatz der Fälle unmittelbar im Anschluß an die Schutzimpfung erkrankt, eine Erscheinung, die bei unserer Zusammenstellung nicht mit besonderer Auffälligkeit zum Ausdruck gelangt. Ein einziges Mal erfolgte die Erkrankung 7 Tage, zumeist aber bedeutend länger nach der letzten Impfung. Ob in diesen Fällen die Impfung als solche, durch Herbeiführen der sogenannten negativen Phase, für die Erkrankung verantwortlich zu machen ist, oder aber, ob die erwünschte Wirkung, nämlich die Stimulierung der Antikörper, noch gar nicht eingetreten ist, die Schutzimpfung also zu spät erfolgte, muß eine Frage weiterer Bearbeitung sein. Basten gibt an, daß von 28 Typhusfällen 15 unmittelbar im Anschluß an die Impfung erkrankten, eine recht hohe Zahl, die ihm Bedenken macht. Die Methode zur Bestimmung der Schutzdauer der Typhusimpfung, wie wir sie anwenden, muß bei der statistischen Bearbeitung eines großen Materials in Kraft treten. Zu diesem Zwecke müssen die vielen Verwechslungsmöglichkeiten in bezug auf die Art und Vornahme der verschiedenen Schutzimpfungen jedoch erst aus der Welt geschaffen und die strikten Vorschriften über die Lokalität

der Impfung durchgeführt werden. Auch muß jeder Soldat sein individuelles Impfbuch besitzen, wo die Eintragungen durch die Aerzte erfolgen.

Daß jedoch auch diese Methode keine absolut genauen Werte bieten kann, liegt auf der Hand. Sie wäre nur dann vollständig zuverlässig, wenn man der Wirklichkeit im biologischen Geschehen in die Karten sehen und mit Sicherheit sagen könnte, daß der Zeitpunkt der Infektion jeweils mit dem Erlöschen der Immunität zusammenfiel. In Tat und Wahrheit wird er jedoch kürzere oder längere Zeit nach diesem Moment erfolgen und die Zwischenzeit müßte bei unserer Bilanz in Abzug gebracht werden. Einwandfreie Resultate könnte, wie oben bereits erwähnt worden ist, nur ein Experiment liefern, wo nach erfolgter künstlicher Immunisierung in regelmäßigen Zeitintervallen Infektionen gesetzt würden. Das Datum des Ausbruchs der Krankheit wäre dann der absolute Indikator für die Dauer der künstlichen Schutzimpfung.

Was die Frage der Wirksamkeit des Impfschutzes überhaupt anbelangt, so ist unser Wissen durch die hervorragenden experimentellen Untersuchungen über die Wirksamkeit der Typhus- und Choleraschutzimpfung von Wassermann und Sommerfeld in schönster Weise bereichert worden. Ich hebe jedoch hervor, daß die Ergebnisse ihrer Experimente an Mäusen nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragbar sind, um so weniger, als unter natürlichen Verhältnissen Mensch und Maus sich hinsichtlich der Invadierbarkeit des Darmes seitens Typhusbacillen in das Blut vollkommen entgegengesetzt verhalten. Niemals gelingt es Typhusbacillen, die Darmschleimhaut einer gesunden Maus zu passieren und eine allgemeine typhöse Erkrankung im Sinne einer „Typhämie“, wie ich diese gern nenne, zu erzeugen. Wohl vermag eine Schwächung des Organismus diese Tiere durch Hungern unter gleichzeitiger Aggressinbehandlung den Gehalt des Blutes an bakteriziden Substanzen zu vermindern und den zellulären Schutz des Darmes zu durchbrechen, so daß Typhusbacillen in den allgemeinen Kreislauf und in die Organe gelangen; daß aber die Anwesenheit der Typhuserreger im Blut und den Organen der Maus nicht, wie beim Menschen, das spezi-

fische Krankheitsbild des Typhus abdominalis erzeugen, ist längst bekannt und wahrscheinlich auf die hohe natürliche humorale Immunität der Maus für Typhusbacillen zurückzuführen. Immerhin geben diese Untersuchungen einen deutlichen Einblick in das wichtige Problem, wie man durch subkutane Applikation des Impfstoffes unter Umständen einen Einfluß auf die zelluläre Immunität des Darmes beim Menschen ausüben könnte. Da ergeben sich Gesichtspunkte von ungeheurer Bedeutung. Denn es scheint ja, daß der Ausbruch der Krankheit in allererster Linie von dem Verhalten der zellulären Immunität der Darmschleimhaut abhängt. Ist sie zu schwach, so tritt infolgedessen der erste Akt der Infektion, nämlich der Durchbruch des Virus durch die Zellschranke des Darmes, ein. Der weitere Verlauf wird alsdann durch Intensität und Quantität der humoralen Immunität bedingt.

Der Abdominaltyphus ist also eine Erkrankung, bei welcher der zelluläre Immunitätsschutz vorwiegend seinen Sitz im Darme hat und wo alles darauf ankommt, auf Mittel und Wege zu sinnen, ihn so stark als möglich zu gestalten. Die äußere Haut und das subkutane Gewebe ist vor einer kutanen Infektion gesichert, sie besitzt hinreichend natürliche zelluläre Antikörper zur Abwehr, denn subkutane Injektionen von lebenden Typhusbacillen vermögen keine Erkrankung im Sinne einer Typhämie zu erzeugen. Auch intravaskuläre Einverleibung des Virus führt nicht zum klinischen Bild des Abdominaltyphus. Es scheint demnach, daß das spezifische Bild der Krankheit seinen Charakter erst nach der Passage der Erreger durch die Darmschleimhaut, ja durch das Passieren gerade dieser speziellen Strecke der Infektionsbahn erhält. Also nicht die bloße Anwesenheit virulenter Typhusbacillen im Blute überhaupt, sondern allein Typhusbacillen, die auf dem Wege des Darmes in den Kreislauf gelangen, sind imstande, das Bild der „Typhämie“ zu erzeugen. Zwischen enteraler zellulärer Immunität und Blutimmunität müssen demnach wichtige, bisher noch nicht aufgedeckte Zusammenhänge bestehen, deren

Analyse die Voraussetzung einer zuverlässigen, spezifischen Therapie sein muß. Wassermann und Sommerfeld konnten wohl zeigen, daß man durch Aus Hungern und Aggressinbehandlung die natürliche zelluläre Immunitätsschranke im Darm der Maus künstlich durchbrechen kann, indem man den natürlichen Gehalt des Blutes an bakteriziden Substanzen vermindert. Das Problem jedoch, ob und mit welchen Mitteln man die natürliche zelluläre Immunität des Darmes durch Vermehrung der bakteriziden Substanzen im Blute des Menschen steigern kann, mit anderen Worten, ob biologische Zusammenhänge zwischen allgemeiner, humoraler (Blutimmunität) und lokaler zellulärer Immunität des Darmes (Invadierbarkeit für Typhusbacillen) bestehen und welcher Natur diese sind — dieses Problem konnte durch die Untersuchungen Wassermanns und Sommerfelds nicht gelöst werden. Aus diesem Grunde kann ich auch ihren Schluß nicht für zwingend erachten, daß ihre Experimente die Gewähr für einen erfolgreichen Schutz der Typhusschutzimpfung gegen die natürliche Ansteckung geben. Wir sind demnach immer noch auf das Aushilfsmittel der statistischen Erhebungen angewiesen.

Es sei noch einiges über die Applikationsweise des Impfstoffs angeführt. Auf Grund der vielen resultatlosen Fälle der Typhusschutzimpfung wäre noch in Erwägung zu ziehen, ob nicht vielleicht eine andere Applikationsweise eines entsprechenden Schutzmittels eher imstande wäre, die zelluläre Immunität des Darmes infektionsfest zu machen, beispielsweise diejenige per os. Eine direkte Beeinflussung der Darmschleimhaut durch prophylaktische Immunisierung oder durch andere chemische Mittel ist auf jeden Fall nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen und verdient tierexperimentell in Angriff genommen zu werden.

Ueber die gegenwärtige Technik der Typhusschutzimpfung und über die Zusammensetzung der verschiedenen Vaccins sprechen wir uns an anderem Orte aus. Einen wesentlichen Einfluß auf den Mechanismus der künstlichen Immunisierung üben die verschiedenen Verfahren nachgewiesenermaßen nicht

aus. Es sei auf die Arbeiten von Kirschbaum, Rembold, Kißkalt, Löwy, v. Ditthorn und Loewenthal verwiesen. Ebenso fällt die Symptomatologie der Typhusschutzimpfung nicht in den Rahmen dieser Ausführungen. Löwy, Johan, John, Hohlweg, Scriba u. a. haben ihr besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

Wenn wir uns nun zu einer Kritik der heutigen Impfschutzmethoden gegen den Abdominaltyphus entschließen, so lehren die Erfahrungen dieses Krieges, soweit sie ohne eine endgültige Statistik schon möglich sind, mit Sicherheit folgendes:

Trotz der gewissenhaft wiederholten Masseneimpfungen in den Armeen der Zentralmächte erkrankt immer noch ein recht ansehnlicher Prozentsatz der Geimpften an Typhus. Die diesbezüglichen Erfahrungen früherer Kriege, die Tatsache, daß der Verlauf der Krankheit bei Geimpften häufig milder zu sein scheint als bei Nichtgeimpften und das berechtigte Gefühl, daß man durch den Weglaß der Impfung in vielen Fällen ein immunisatorisches Versäumnis begehen würde, veranlassen die obersten Sanitätsbehörden zu Recht, die Typhusschutzimpfung vorläufig noch mit aller Energie weiter zu betreiben. Es wäre wünschenswert, soweit bis heute von bakteriologischen Instituten größere statistische Erhebungen gemacht worden sind, diese zur Beurteilung der Frage zu veröffentlichen.

Die Methoden der heutigen Typhusschutzimpfung sind nicht erschöpft. Experimentelles Weiterarbeiten auf diesem Gebiet ist dringend geboten. Im Brennpunkt des Interesses muß die Frage nach dem Zusammenhange zwischen allgemeiner humoraler Immunität und lokalem zellulärem Schutz des Darmes stehen. Es müssen Methoden ersonnen und experimentell geprüft werden, die eine wirksame Beeinflussung der lokalen zellulären durch die allgemeine Blutimmunität gewährleisten, oder auf direktem Wege eine Darmimmunität herbeiführen.

Zusammenfassung.

1) Der Krieg hat die wiederholten Typhusschutzimpfungen in den Heeren der Zentralmächte als gesetzliche Maßnahme eingeführt. Durch diesen Eingriff wird die Gruber-Widalsche Reaktion positiv und kann deshalb bei Typhuskranken, die mit Typhusvaccin geimpft worden sind, nicht mehr als beweiskräftiges Diagnostikum verwendet werden. Durch die Impfungen werden keine einheitlichen Titerwerte der Agglutination geschaffen. Da die Erkrankung an Abdominaltyphus außerdem alle nur möglichen Werte der Agglutination zur Folge haben kann, ist der Versuch wohl sehr gewagt, bestimmte Höherwerte der Agglutination für die Typhusdiagnose geimpfter Personen zu verwerten. Die Anwendung der Gruber-Widalschen Reaktion ist seit dieser Erkenntnis aus der Typhusdiagnostik der Seuchenlazarette verschwunden.

2) Die experimentelle Erzeugung der Gruber-Widalschen Reaktion mittels Kochsalzlösung bei Neurasthenikern, das Phänomen der Gruppenagglutination, sowie das Vorkommen positiven Widals bei Tuberkulose und Staphylokokkenkrankheiten etc. haben das Dogma von der Spezifität der Gruber-Widalschen Reaktion erschüttert und ihr den Rang einer allgemeineren immunbiologischen Reaktion zugewiesen. Aus diesen Gründen hat sie auch bei Nichtgeimpften wesentlich an Dignität eingebüßt.

3) Es ist bis heute nicht gelungen, die Gruber-Widalsche Reaktion durch eine andere immunbiologische Reaktion zu ersetzen. Die Komplementablenkungsmethode, sowie Kutananalysen vermögen keinen Ersatz zu liefern.

4) Die Dauer des Impfschutzes wechselt von Fall zu Fall. Die ungeheure individuelle Verschiedenheit im immunbiologischen Geschehen nötigt uns zu neuen Perspektiven. Wie aus den zeitlichen Angaben des Verfassers über die Dauer der Schutzwirkung zu ersehen ist, kann es sich keinesfalls um sehr lange Zeit handeln. Ein Jahr ist viel zu hoch bemessen, eine exakte Lösung dieser Frage wäre nur mehr experimentell zu liefern. Die Statistik kann nur Unvollkommenes leisten, hingegen sagt sie uns, ob überhaupt Impf-

schutz möglich ist, und in dieser Hinsicht haben die Angaben über Morbidität und Mortalität aus früheren Kriegen zugunsten einer Schutzwirkung gesprochen.

5) Experimentelle Belege für die Erzeugung eines Impfschutzes beim Menschen fehlen. Sie wären gleichbedeutend mit einer wirklichen Immunisierung. Wassermann und Sommerfeld strebten die Lösung dieses Problems an, indem sie zunächst Mäuse durch Hungern unter gleichzeitiger Aggressinbehandlung so beeinflussten, daß Typhusbacillen die Darmschleimhaut durchwanderten und in das Blut gelangten. Damit wurde nachgewiesen, daß man dem Darms seine zelluläre Immunität durch Verminderung der bakteriziden Substanzen im Blute nehmen kann. Die Verhältnisse lassen sich aber nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen, weil man keinen Mäusetyphus im Sinne des Typhus abdominalis kennt¹⁾ und weil es sich bei der Typhusimmunisierung des Menschen nicht um eine Verminderung der Immunität, sondern im Gegenteil um eine Steigerung handelt.

6) Alle immunbiologischen Bestrebungen auf dem Gebiete des Abdominaltyphus haben ein sorgfältiges Studium der Beziehungen zwischen Blutimmunität und der Immunität der Darmschleimhaut zur Voraussetzung. Je klarer uns das gegenseitige Verhältnis zwischen humoraler Immunität (Blutimmunität) und zellulärer enteraler Immunität wird, desto aussichtsreicher gestaltet sich auch die Beeinflussung der einen durch die andere im Mechanismus der Immunisierung. Diese Erkenntnis verdanken wir den bahnbrechenden Untersuchungen Muchs über humorale und zelluläre Immunität. Sie kann mit großem Vorteil aus der Tuberkuloseforschung auf die künstliche Immunisierung gegen den Abdominaltyphus übertragen werden.

Literaturnachweis.

- 1) Kellermann, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 52.
- 2) Dünner, Berl. klin. Wochenschr., 1915, No. 3.
- 3) — Berl. klin. Wochenschr., 1915, No. 26.
- 4) Wolff-Eisner, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 7.

1) Die Darmschleimhaut einer gesunden Maus ist für Typhusbacillen nicht durchlässig.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XXVI.

82 Wilhelm Müller, Die wichtigsten immunbiol. Erfahrungen etc.

- 5) Gaethgens, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 26.
- 6) Ziersch, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 39.
- 7) Reiß, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 38.
- 8) Hirschbruch, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 18.
- 9) Kühl, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 31.
- 10) Hage und Korff-Petersen, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 45.
- 11) Stursberg und Klose, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 11.
- 12) Hohlweg, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 16.
- 13) Stuber, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 35.
- 14) Marek, Wiener klin. Wochenschr., 1915, No. 20.
- 15) Soldin, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 29.
- 16) Blaßberg, Wiener klin. Wochenschr., 1915, No. 48.
- 17) Felke, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 17.
- 18) Wagner, Wiener klin. Wochenschr., 1915, No. 23.
- 19) Pulay, Wiener klin. Wochenschr., 1915, No. 44.
- 20) Kossel, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 48.
- 21) Feistmantel, Wiener klin. Wochenschr., 1915, No. 9.
- 22) Sinnhuber, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 34.
- 23) Dieudonné, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 34.
- 24) Schulze, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 24.
- 25) Basten, Med. Klin., 1915, No. 21.
- 26) Wassermann und Sommerfeld, Med. Klin., 1915, No. 48.
- 27) Rembold, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 30.
- 28) Kißkalt, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 14.
- 29) Löwy, Wiener klin. Wochenschr., 1915, No. 36.
- 30) Ditthorn und Loewenthal, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 34.
- 31) Löwy, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 43.
- 32) Johan, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 28.
- 33) John, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 28.
- 34) Scriba, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 22.
- 35) Löwy, Wiener klin. Wochenschr., 1915, No. 39.
- 36) Sachs, Med. Klin., 1914, No. 42,
- 37) Cahn-Bronner, Med. Klin., 1915, No. 35.

(G. C.)

*Nachdruck verboten.***Ruhr und ruhrähnliche Erkrankungen.**

Von Dr. O. Umnus.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. August 1916.)

Den zum ersten Male im gegenwärtigen Weltkriege durchgeführten Schutzimpfungen verdanken wir bei allen Truppenteilen einen ungeahnt günstigen Seuchenstand. Genaue statistische Feststellungen liegen zwar noch nicht vor, so viel läßt sich aber schon jetzt übersehen, Typhus und Cholera sind im Vergleich zu dem Millionenheere, das seit vielen Monaten im Felde steht, selten aufgetreten und, wo sie vorkamen, nach erfolgter Schutzimpfung unter verhältnismäßig leichten Erscheinungen mit fast immer gutem Ausgange verlaufen.

Im Gegensatz zu diesen Seuchen übertraf die Ausbreitung der Ruhr und ruhrähnlichen Erkrankungen bei weitem unsere Erwartungen, vor allem im Bewegungskriege, bei dem ungünstige äußere Verhältnisse, unzureichende unregelmäßige Verpflegung, Mangel an warmen Speisen, verdorbene Nahrung, unreines Trinkwasser und häufige Erkältungen eine hervorragend prädisponierende Rolle spielten. Hinter den Erfordernissen des Krieges mußten die notwendigen Postulate vorbeugender Prophylaxe und beim Seuchenausbruch oft die wichtigsten hygienischen Maßnahmen weit zurücktreten. Außerdem fehlte es an einem brauchbaren Schutzimpfstoff.

Nicht alle klinisch als Ruhr bezeichneten Colitiden waren Ruhrerkrankungen.

Aetiologisch unterscheiden wir bekanntlich die in den Tropen heimische Amöbenruhr von der über die ganze Erde verbreiteten Bakterienruhr, deren Erreger, wie der Name besagt, zur Gruppe der Schizomyceten gehören.

Die Frage, ob alle Erreger als Ruhrbacillen anzusprechen sind, wird verschieden beantwortet. Einige Autoren unterscheiden die Dysenterie mit dem Shiga-Kruse-Bacillus von der Pseudodysenterie (Kruse) oder Paradyenterie [Liefmann und Nieter (8)], deren Erreger die übrigen Ruhrtypen sind. Andere, z. B. Doepter (9) und Blackham (10),

vertreten den Standpunkt, daß die Erreger nur Varietäten eines *Bacillus*, des Dysenteriebacillus, sind. Nach O. Lentz (10) treffen beide Auffassungen nicht das Richtige, denn einerseits verhalten sich die Erreger biologisch so verschieden, daß sie nicht für Varietäten eines Stammes gehalten werden können, anderseits rufen sie oft derart übereinstimmende Krankheitsbilder hervor, daß eine Teilung der Ruhr in zwei Krankheitsgruppen nicht hinreichend begründet erscheine. Allerdings gibt er zu, daß die Shiga-Kruse-Ruhr sich in der Regel nicht unwesentlich von anderen Ruhrinfektionen unterscheide; sie verlaufe schwerer und weise eine bedeutend größere Mortalität auf. Ihr Erreger zeichne sich auch vor den anderen Ruhrtypen durch seine Virulenz und seinen Gehalt an Endotoxinen, die in die Kulturmedien übertreten können, und durch sein besonderes kulturelles Verhalten aus. Die verschiedenen Stämme nennen wir „Ruhrtypen“.

Auf Grund meiner klinischen Beobachtungen und bakteriologischen Untersuchungsergebnisse halte ich in Uebereinstimmung mit Kruse u. a. eine Trennung der Ruhr (Shiga-Kruse) von den übrigen Ruhrerkrankungen für notwendig. Die letzteren nenne ich Pararuhr. Diesen Name bringe ich, ohne einen neuen Begriff einführen zu wollen, besonders wegen der Analogie mit Typhus und Paratyphus, an Stelle von Pseudo- und Paradysenterie in Vorschlag.

Bei der Ruhr ist der Krankheitsverlauf in der Regel schwerer als bei Pararuhr. Hartnäckige, oft nach kurzen Pausen scheinbarer Genesung immer wieder auftretende Verdauungsstörungen mit dünnbreiigen bis flüssigen Entleerungen, schleimig-blutige, gewöhnlich nicht sehr zahlreiche (5–20) Stühle, mehrere Wochen hindurch anhaltendes Fieber, die lange Dauer (6–15 Wochen) kennzeichnen das Krankheitsbild der Ruhr. Dagegen hat die Pararuhr unter sehr zahlreichen (bis 80 und mehr am Tage), oft rein blutigen Stühlen und mit geringem, schon nach wenigen Tagen verschwindendem Fieber meist einen schnelleren und günstigeren Verlauf. Ausnahmen kommen natürlich bei Ruhr und Pararuhr vor. Starre Gesetze gibt es in der klinischen Medizin nicht. Entsprechend den schweren Krankheitserscheinungen der Ruhr ist ihre Mortalitätsziffer bedeutend höher, als die der Pararuhr. Die erhöhte Morbidität und Mortalität der Ruhr finden ihre Erklärung in der hohen Virulenz des Erregers, des einzigen in seinem gesamten biologischen Verhalten genau bekannten und in seiner ätiologischen Bedeutung unumstrittenen Ruhrtypus.

Auf das Eindringen des hochvirulenten Erregers und seiner Gifte in den Körper antwortet das Blut mit der Bildung spezifischer Antistoffe und Agglutinine in bedeutend stärkerem Grade, als bei der Infektion mit den viel weniger virulenten Pararuhrbacillen. Das Serum eines Ruhr-Patienten gibt deshalb stets einen stark positiven und eindeutigen Widal im Gegensatz zum Serum von Pararuhr-Patienten, das oft zu schwach agglutiniert, um Schlüsse aus der Serumreaktion ziehen zu können, oder, wenn es einen starken Widal gibt, Gruppenreaktion zeigt, d. h. es agglutiniert mehrere

Stämme gleichzeitig, läßt somit nicht erkennen, zu welchem Typus der Infektionserreger gehört.

Die Ruhr unterscheidet sich also klinisch in der Regel, bakteriologisch und serologisch immer von den übrigen infektiösen Dickdarmerkrankungen und ist im Gegensatz zu diesen eine in jeder Hinsicht scharf umgrenzte und genau erforschte Krankheit. Schon aus diesem Grunde ist ihr eine Sonderstellung einzuräumen. Für die Seuchenstatistik ist es ebenfalls von Wichtigkeit, eine gefährliche Seuche nicht mit harmloseren Erkrankungen unter einem Namen zu vereinigen, die nicht selten nur unter den Erscheinungen gewöhnlicher Sommerdiarrhöen verlaufen. Endlich wird auch die wissenschaftliche Seuchenforschung, wie jede Erkenntnis in den Naturwissenschaften, durch eine möglichst weitgehende Trennung in verschiedene Arten stets am besten gefördert.

Neben Ruhr und Pararuhr kommen Dickdarmentzündungen teils vereinzelt, teils als Massenerkrankungen vor, bei denen keine spezifischen Erreger gefunden werden. Ihre Entstehung ist wahrscheinlich auf Organismen der Coligruppe zurückzuführen, die nach vorangegangener, prädisponierender Resistenzverminderung der Mucosa durch mangelhafte Ernährung, verdorbene Speisen, Erkältungen, traumatische Reizungen etc. entzündungserregend auf die Darmwand einzuwirken imstande sind. Zur Erklärung ihrer krankheitserregenden Wirkung ist verschiedentlich die Existenz pathogener Varietäten angenommen worden. Ihr Vorkommen ist jedoch nicht erwiesen. Vielleicht gibt es aber — manche Beobachtungen sprechen hierfür (z. B. in Kurorten) — Colistämme, deren Entwicklung z. B. an das Wasser gewisser Gegenden gebunden ist. Die Einwohner sind immunisiert durch Aufnahme dieser Colivarietäten von Jugend an. Jeder Fremde aber, der mit dem Wasser oder der Nahrung die ihm artfremden Colistämme zu sich nimmt, wird je nach seiner individuellen Konstitution unter mehr oder weniger schweren Verdauungsstörungen erkranken, bis er sich „akklimatisiert“ hat.

Nach der Aetiologie unterscheiden wir also folgende drei Arten infektiöser Colitis:

Krankheit	Erreger
1. Ruhr	Ruhrbacillus (Shiga-Kruse-Bacillus)
2. Pararuhr	a) 1. Typus Y b) Stamm A bis H 2. „ Flexner nach Kruse 3. „ Strong 4. „ Aronson u. a.
3. Colitis haemorrhagica	ohne spezifischen Erreger

Aus den Krankheitsbezeichnungen ergibt sich ohne weiteres das bakteriologische Untersuchungsergebnis. Ihre Anwendung erhält schon hierdurch eine unbestreitbare Berechtigung. Die klinische Unterscheidung zwischen Pararuhr und Colitis haemorrhagica wird meist nicht möglich sein, die Diagnose also von dem Resultat der bakteriologischen Untersuchung abhängen.

Colitis haemorrhagica werden wir diagnostizieren, wenn keine Erreger im Stuhl und keine Agglutinine im Blut nachgewiesen sind, wenn ferner kein Verdacht einer Ruhrinfektion besteht, der besonders in Uebereinstimmung mit schwerem Krankheitsverlauf gegen die Richtigkeit der Diagnose sprechen würde.

Ueber den differentialdiagnostischen Wert der Zuckerarten [besonders Mannit und Maltose¹⁾] herrschen verschiedene Meinungen. Unsere Beobachtungen sprechen für die Anschauungen von O. Lentz u. a.

Biochemische Reaktionen verlaufen, wie Lentz ausführt, nicht nach Art rein chemischer Reaktionen, da es sich hier nicht um die Einwirkung zweier chemischer Reagentien aufeinander handle, sondern um den gleichzeitigen Ablauf von in dem Ausdruck ihrer Wirkung oft einander geradezu entgegenarbeitenden biologischen Vorgängen. In den Kohlehydratnährböden laufen nebeneinander her die Umsetzungen der Kohlehydrate und der Eiweißstoffe, Peptone und Albumosen. Die Spaltungsprodukte der ersteren haben zumeist sauren, die der letzteren in der Regel alkalischen Charakter. Je nachdem die Avidität des Bakterium für das Kohlehydrat oder für die Peptone stärker ist, werden mehr saure oder alkalische Spaltungsprodukte frei und machen sich an der Rot- oder Blaufärbung des im Nährboden enthaltenen Lackmusfarbstoffes kenntlich. Ist die eine Komponente des Nährbodens in zu geringer Menge vorhanden, so könne nach ihrer Erschöpfung die Reaktion des Nährbodens durch die entgegengesetzte Reaktion der durch die Spaltung der anderen Komponente entstandenen Produkte neutralisiert werden. Der normale Ablauf der Reaktionen könne aber auch dadurch gestört werden, daß die Avidität des Bakterium aus irgendwelchen Gründen eine Aenderung erfährt. Viele Beobachtungen ferner beweisen, daß länger fortgezüchtete Ruhrbacillen ihr Verhalten gegenüber Kohlehydraten leicht ändern und sich veränderten Lebensbedingungen anpassen können. Deshalb liege aber noch kein Grund vor, an der Zuverlässigkeit der Nährböden für die Differenzierung frisch aus menschlichen Faeces isolierter Ruhrbacillen zu zweifeln. Es handelte sich hier lediglich um eine Alterserscheinung lange künstlich fortgezüchteter

1) Nährboden mit Mannit und Maltose wurden zuerst von v. Drigalski hergestellt. O. Lentz empfahl sie zur Unterscheidung der Ruhrtypen.

Stämme, während frisch isolierte Ruhrbacillen die typischen Reaktionen stets einwandfrei geben.

In unserem Laboratorium haben wir einen alten Flexnerstamm, der Maltose nicht mehr vergärt, und ich habe einen Y-Stamm, dessen frisch aus dem Stuhl gewonnene Kultur sich regulär verhielt, mehrere Monate auf Nähragar gezüchtet, bis er sein Verhalten gegenüber Kohlehydraten änderte und, wie Typus Flexner, Maltose vergärte.

Wie notwendig die Spezialnährböden für die Bakterienbestimmung sind, werden die nachstehenden Ausführungen über das serologische Verhalten der Bakterien (Agglutination und Mitagglutination) zeigen. Nur mit Hilfe der Agglutination ohne Benutzung der Rotberg- und Barsiekow-Nährböden konnten wir oft die pathogenen Keime nicht von Coli- und anderen Bakterien unterscheiden, ohne Mannit und Maltose die Erreger der Ruhr und Pararuhr nicht untereinander.

Die Agglutination kommt in Anwendung zur Orientierung als Probeagglutination und zur Austitrierung als Röhrenagglutination.

Die Röhrenagglutination konnte bei der großen Zahl der Einsendungen und aus Raummangel im Brutschrank nicht immer ausgeführt werden. Die Diagnose mußte häufig auf Grund des positiven Ausfalles der Probeagglutination und nach Feststellung des völlig einwandfreien morphologischen und kulturellen Verhaltens der Bakterien gestellt werden.

Von den Serumverdünnungen, die bei der orientierenden Agglutination benutzt wurden, bewährten sich am besten die Verdünnungen von 1:100 bis 1:400. Schwächere Verdünnungen versagten bisweilen (Agglutinoidbildung), stärkere agglutinierten zu spät, da die Objektträgertropfen vorher eintrockneten. Als Kontrollsera dienten stets artfremde und Normalsera. Durch die Probeagglutination war es in der Mehrzahl der Fälle nicht möglich, die einzelnen Typen voneinander zu unterscheiden.

In Tabelle I habe ich 50 frisch aus dem Stuhl gezüchtete Y-Stämme zusammengestellt, von denen nur 20 am stärksten durch Y-Serum agglutiniert wurden. Die übrigen reagierten nur mit Shiga- und Flexner-Serum, andere mit zwei oder allen drei Seris zugleich.

In zweifelhaften Fällen führten wir stets die Röhrenagglutination aus. Die Bakterien wurden in Röhren mit je 1 ccm der verschiedenen bis zur Titerhöhe ansteigenden Serumverdünnungen verrieben, danach 2 Stunden bei 37° bebrütet. Das endgültige Resultat wurde erst am nächsten Tage festgestellt. Bis dahin blieben die Röhren bei Zimmertemperatur stehen.

Tabelle I.

No.	Sera			Nährboden		Dia- gnose	Bemerkungen
	1:100 Shiga-Kruse Titer 1:1000	1:100 Flexner Titer 1:5000	1:100 Y Titer 1:5000	Mannit	Mal- tose		
645	—	—	++	rot	blau	Y	Bei allen Stämmen Neutralrot: kein Gas; B. T. leicht bis stark gerötet, koaguliert; B. M. blau.
650	+	±	—	"	"	Y	
657	+	—	++	"	"	Y	
685	—	+	++	"	"	Y	
686	+	+	+++	"	"	Y	
729	—	—	++	"	"	Y	
761	+	+	++	"	"	Y	
808	+	—	+	"	"	Y	
849	—	—	+	"	"	Y	
866	—	—	+	"	"	Y	
890	—	—	+	"	"	Y	
926	—	—	+	"	"	Y	
1269	+	+	+	"	"	Y	
1443	—	—	+	"	"	Y	
1555	—	—	+	"	"	Y	
1560	+	—	—	"	"	Y	
1564	—	+	+	"	"	Y	
1577	—	—	++	"	"	Y	
1622	—	+	—	"	"	Y	
1610	—	+	—	"	"	Y	
1617	+	+	—	"	"	Y	
1615	—	+	—	"	"	Y	
1620	+	++	+	"	"	Y	
1636	+	+	+	"	"	Y	
1680	+	—	—	"	"	Y	
81	—	+	+++	"	"	Y	
82	+	+	—	"	"	Y	
83	+	+	—	"	"	Y	
1709	++	—	+	"	"	Y	
15	—	—	+++	"	"	Y	
49	—	+	—	"	"	Y	
62	+	+	+++	"	"	Y	
94	—	+	—	"	"	Y	
1947	—	+	—	"	"	Y	
51	—	—	+	"	"	Y	
2054	—	+	+	"	"	Y	
2118	—	+	—	"	"	Y	
2148	—	+++	+	"	"	Y	
2163	+	—	—	"	"	Y	
89	—	+	—	"	"	Y	
77	+	+	—	"	"	Y	
86	—	+	+	"	"	Y	
2209	—	+	—	"	"	Y	
37	—	+	—	"	"	Y	
2402	—	+	+	"	"	Y	
2432	—	+	—	"	"	Y	
2478	—	—	+	"	"	Y	
2479	—	—	+	"	"	Y	
2523	+	+	+++	"	"	Y	
2762	+	+	—	"	"	Y	

Tabelle II.

Stamm	Sera			Kulturen		Diagnose
	Shiga-Kruse Titer 1:800	Flexner Titer 1:10000	Y Titer 1:10000	Mannit	Maltose	
2	1:400	1:1000	1:100	blau	blau	Shiga-Kruse
45	1:400	1:8000	1:8000	rot	"	Y
149	1:100	1:1000	1:10 000	"	"	Y
203	—	1:10 000	1:4000	"	"	Y
250	1:400	1:5000	1:10 000	"	"	Y
253	—	1:10 000	1:4000	"	"	Y
260	1:100	1:10 000	1:10 000	"	"	Y
318	1:100	1:1000	1:10 000	"	"	Y
326	1:100	1:1000	1:8000	"	"	Y
330	1:100	1:5000	1:10 000	"	"	Y
361	1:200	1:10 000	1:10 000	"	"	Y
402	—	1:1000	1:4000	"	"	Y
600	—	1:5000	1:400	"	"	Y
602	—	1:1000	1:400	"	"	Y

Tabelle II enthält eine Anzahl Resultate von Röhrchen-agglutinationen. 7 von 14 Stämmen wurden höher agglutiniert von dem zugehörigen Serum, als von anderen Seris, verhielten sich also, von Mitagglutinationen durch stammverwandte Sera abgesehen, serologisch einwandfrei (No. 2, 149, 250, 318, 326, 330, 402); 3 Stämme (No. 45, 260, 361) konnten serologisch nicht bestimmt werden, weil sie mit Y- und Flexner-Serum gleich hoch agglutinierten. In 4 Fällen war das Agglutinationsergebnis geradezu irreführend; die Stämme wurden von einem allen an ein gutes Serum zu stellenden Anforderungen genügenden Flexner-Serum höher als von Y-Serum agglutiniert, mußten demnach für Typus Flexner gehalten werden, während sie in der Tat zum Typus Y gehörten, wie aus ihrem Wachstum auf Mannit und Maltose, aus dem (im Verhältnis zur Flexnerinfektion) leichten Krankheitsverlaufe und schließlich auch aus der Tatsache gefolgert werden mußte, daß der Typus Flexner in Deutschland ein äußerst seltener Krankheitserreger ist und alle Pararuhrfälle in derselben Gegend zum Typus Y gehörten.

Die agglutinierenden Stämme wurden im Fuchsinpräparat auf ihre morphologische Beschaffenheit, im hängenden Tropfen auf ihre Beweglichkeit geprüft, der Ruhrbacillus außerdem auf Endotoxine durch intravenöse Injektionen abgetöteter Kulturen in die Ohrvene eines Kaninchens.

Verdächtige Stämme, die nicht agglutinierten, müssen auf ihr Verhalten gegenüber dem Patientenserum geprüft werden. Wenn sie agglutinieren (positive Autoagglutination), ist zur Identifizierung des Stammes das Immunisierungsverfahren anzuwenden und das hierbei vom Versuchstier gewonnene Serum auf seine Agglutinationsfähigkeit gegenüber Ruhr- und Pararuhrbakterien zu prüfen.

Würden wir uns auf die Agglutination allein verlassen und auf die gebräuchlichen Spezialnährböden von Rotberg, Barsiekow etc. verzichten, dann könnte mit Sicherheit eine große Zahl von Fehldiagnosen vorausgesagt werden; denn es gibt Bakterien, die auf Drigalski-Conradi-Agar von Pararuhrerregern nicht zu unterscheidende Kolonien bilden und sich infolge Mitagglutination agglutinatorisch wie diese verhalten.

Unter Mitagglutination verstehen wir die Eigenschaft vieler Sera, außer dem zugehörigen Stamm noch andere Bakterien zu agglutinieren.

Wenn die Mitagglutination die Titergrenze erreicht, nenne ich sie Paragglutination. Die Bezeichnung in diesem Sinne halte ich für zweckmäßig, weil sie in kürzester Form zum Ausdruck bringt — was für die Bakterienbestimmung wissenswert ist —, daß der mitagglutinierte Stamm, den wir Paragglutinator nennen, wegen seiner Agglutination bis zur Titergrenze in keiner Weise serologisch von dem eigentlichen Erreger unterschieden werden kann. Er verhält sich agglutinatorisch wie dieser. Eine Trennung zwischen Krankheitskeim und Paragglutinator ist bei gleicher morphologischer Beschaffenheit nur kulturell durch Spezialnährböden möglich.

Für die Beurteilung der agglutinierenden Sera können wir uns ebenfalls mit Vorteil der Bezeichnung Paragglutination bedienen, indem wir zwischen mitagglutinin- und paragglutininreichen Seris unterscheiden und unter letzteren solche Sera verstehen, die für die serologische Bakterienbestimmung nach Möglichkeit nicht zu verwenden sind, weil sie den Erreger nicht vom Paragglutinator zu unterscheiden gestatten.

Tabelle III enthält eine Anzahl Coli-Stämme, die zum Teil bei der orientierenden Objektträgeragglutination, zum Teil bei der Röhrchenagglutination von Ruhr- und Pararuhr-Seris agglutiniert wurden. Stamm 520 ist ein Paragglutinator (Coli); er wird vom Y-Serum bis zur Titergrenze agglutiniert, läßt sich also agglutinatorisch nicht vom Y-Typus unterscheiden.

Tabelle III. Mitagglutination.

Colistämme nach 2 Stunden bei 37°	Sera		
	Shiga-Kruse Titer 1:800	Flexner Titer 1:5000	Y Titer 1:5000
1. Röhrchenagglutination.			
435	—	1:1000	1:400
601	1:200	1:1000	1:400
621	1:100	1:1000	1:3000
520	—	—	1:5000
2. Objektträgeragglutination.			
nach einigen Minuten			
886	—	1:200 sofort	1:200 sofort
1173	1:200	—	—
1342	1:200	—	—
1567	1:100	1:100	—
1747	1:100	1:100	1:100
2290	1:200	—	—
2680	1:100	—	—

Der Nachweis der Agglutinine.

Die bakteriologische Stuhluntersuchung führt in vielen klinisch einwandfreien Fällen zu keinem positiven Resultate. Deshalb muß jedes bakteriologische Hilfsmittel benutzt werden, das zur Aufklärung des Falles und Sicherstellung der klinischen Diagnose beitragen kann. Wir besitzen nur ein Mittel dieser Art — die bei der Typhusdiagnose bewährte Gruber-Widal-Reaktion.

Die Sera werden mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 verdünnt, und so viel Kubikzentimeter von jeder Verdünnung hergestellt, als Stämme agglutiniert werden sollen. Die Kulturen, mit wenig physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, sollen eine möglichst konzentrierte Bakterienemulsion bilden und nicht zur Krümelbildung, die Agglutination vortäuschen kann, neigen. Zur Kontrolle benutzen wir je 2 Röhrchen mit Serumverdünnungen 1:100 und 1:200 für Typhus- und Paratyphus B-Bacillen, ferner zur Prüfung der Ruhr-, Pararuhr-, Typhus-, Paratyphus-Bacillen auf ihr Verhalten zum Normalserum je 1 Röhrchen mit Normalserumverdünnung 1:50.

Die Röhrchen kommen auf 2 Stunden in den Brutschrank und bleiben dann bis zum nächsten Tage bei Zimmertemperatur stehen. Nach etwa 20 Stunden wird das endgültige Resultat festgestellt.

Wenn die Kontrollröhrchen mit Ruhr- bzw. Pararuhr-Stämmen Agglutinationen zeigen, sind die Stämme unbrauchbar, und der Versuch ist noch einmal anzusetzen. Sind neben positivem Ruhr- oder Pararuhr-Widal die Typhus- oder Paratyphus-Kontrollröhrchen positiv, so muß der Widal wiederholt

angesetzt werden, weil nur aus dem Ansteigen des Widal bei weiteren Untersuchungen eine Diagnose auf Ruhr oder Pararuhr gestellt werden kann, vorausgesetzt, daß nicht auch der Kontroll-Widal mit Typhus oder Paratyphus ansteigt; in diesem Falle kann das Ergebnis der Serumreaktion überhaupt nicht diagnostisch verwertet werden.

Die Kontrolle mit Typhus- und Paratyphuserregern ist von großer Bedeutung, da bei der Entstehung von Typhus- und Paratyphusagglutininen das Auftreten von Mitagglutininen für Ruhr und Pararuhrbacillen beobachtet wurde.

Der Wert der Serumreaktion für die Dysenteriediagnose wird meist sehr gering eingeschätzt, weil die Erreger der Ruhr und Pararuhr auch mit Serum von Gesunden oder Nicht-Ruhrkranken Agglutinationen geben. Diese Tatsache habe ich in einer größeren Zahl von Fällen bis zu bestimmten Serumverdünnungen bestätigen können.

Tabelle IV. Serumagglutination.

	Flexner	Shiga-Kruse	Y
1. Serum Gesunder.			
1. 8000	—	—	—
2. 9582	—	—	—
3. 9669	—	—	—
4. 9736	—	—	—
5. 9761	1:50	—	1:200 +
6. 9762	1:100	—	1:50
7. 9763	1:50	—	1:50 ++
8. 9966	—	1:100 +	—
9. 9967	1:100 +	1:100 +	1:100 +
10. 9968	—	—	—
11. 9969	1:100 +	—	—
12. 9970	—	—	—
2. Serum Nicht-Ruhrkranken.			
13. Mandelentzündung	(1:50)	1:100 +	—
14. "	(1:50 ++)	(1:50)	—
15. "	1:100 +	1:100 +	—
16. Typhus-Rekonvaleszent	—	(1:50)	—
17. " "	1:300 +	1:100 +	1:100 ±
18. Paratyphus B-Rekonv. (675)	1:200	1:100	—
29. " " (676)	—	1:100	—
20. " " (677)	—	—	—
21. " " (678)	—	1:100	—
22. Chlorose	—	—	—
23. Scharlach (ohne Fieber) nach 4 Monaten	—	—	—
24. Scharlach-Rekonvaleszent	—	—	1:50 ±
25. Offene Tuberk., ohne Fieber	1:50	—	1:100 +
26. Nierenentzündung, chron.	—	—	—

Tabelle V. Widal bei positivem Stuhlbefund.

No.	Tag der Erkrankung und Untersuchung	Shiga-Kruse	Y	Flexner	Stuhl- be- fund	Tage seit Beginn der Erkrankung
730	Tag der Erkrankung 14. XII. 14					
" "	1. Untersuch. 28. XII. 14	1:50	—	1:50	Y	14
729	Tag der Erkrankung 16. XII. 14					
" "	1. Untersuch. 28. XII. 14	1:100	1:100	1:100 ++	Y	12
761	Tag der Erkrankung 30. XII. 14(?)					
" "	1. Untersuch. 30. XII. 14	—	—	—	Y	(?)
788	Tag der Erkrankung 25. XII. 14					
" "	1. Untersuch. 30. XII. 14	—	—	—	Y	5
599	Tag der Erkrankung 11. XII. 14					
" "	1. Untersuch. 16. XII. 14	—	—	—	Y	5
4832	Tag der Erkrankung 13. VIII. 15					
" "	1. Untersuch. 17. VIII. 15	—	—	—	Y	4
7269	Tag der Erkrankung 4. XI. 15					
" "	1. Untersuch. 9. XI. 15	1:50	—	—	Y	5
9151	Tag der Erkrankung 27. I. 16					
" "	1. Untersuch. 1. II. 16	1:50 ++	—	1:50 ±	Shiga	4
" "	2. " 6. II. 16	1:100 ++	1:100 ++	1:100 ++	"	9
" "	3. " 11. II. 16	1:400 +++	1:100 ++	—	"	14
" "	4. " 19. II. 16	1:400 +++	1:100 +	1:100 +	"	22
" "	5. " 3. III. 16	1:400 +++	1:200 +	1:100 +	"	35
		1:1000 +				
9276	Tag der Erkrankung 10. VIII. 15					
" "	1. Untersuch. 6. II. 16	1:200 +	1:50	1:50	Shiga	5 Mon. 27 Tg.
" "	2. " 17. II. 16	1:200 +	—	—	"	6 " 10 "
" "	3. " 17. IV. 16	1:100	1:50	—	"	8 " 10 "
7752	Tag der Erkrankung 20. X. 15					
" "	1. Untersuch. 6. XI. 15	1:100 ++	1:100 +	1:200 +	Y	17
" "	2. " 12. XI. 15	1:100 +	—	1:100 +	"	23
" "	3. " 26. XI. 15	1:100 +	—	1:100 +	"	37
1900	Tag der Erkrankung 26. IX. 14					
" "	1. Untersuch. 4. XII. 14	1:100	—	—	Shiga	8
" "	2. " 12. XII. 14	1:400 +++	—	—	"	16
1982	Tag der Erkrankung 17. II. 15					
" "	1. Untersuch. 24. II. 15	—	—	1:50	Y	.
" "	2. " 1. III. 15	—	1:50	1:100 ++	"	.
" "	3. " 14. III. 15	—	1:100 ++	1:300 ±	"	25

In Tabelle IV ist das Resultat von 26 Serumagglutinationen zusammengestellt. Das Serum stammt von Gesunden oder von Patienten, die nicht an einer Colitis litten. Die Ruhrbacillen wurden bis 1:100 (+), die Pararuhrerreger bis 1:200 (+) agglutiniert mit einer Ausnahme, die einen Typhus-rekonvaleszenten betraf (Fall 6), dessen Blut noch bis

1:300 (+) Typus Flexner agglutinierte. Solange der Widal sich unter 1:100 (+) bzw. 1:200 (+) hält, beweist er nichts. Steigt er aber darüber hinaus, so spricht er — von 1:100 (+++) bzw. 1:200 (+++) an — mit Wahrscheinlichkeit für Ruhr bzw. Pararuhr.

Eine sichere Diagnose läßt sich bei Ruhr erst von 1:400 (+++) ab und bei Pararuhr nur dann stellen, wenn der Widal allmählich bis mindestens 1:300 ansteigt oder bei Spätdiagnosen allmählich abfällt.

Tabelle V enthält eine Anzahl Fälle mit positivem Bacillenbefunde. Die Serumagglutinationen sind im Beginn der Krankheit bis zum 5. Tage schwach, in der 2. Woche sehr stark und nach der Genesung noch über 8 Monate, vom Krankheitsbeginn gerechnet, deutlich positiv.

Im Falle 9151 war die Diagnose aus dem Serumreaktionsbefund sichergestellt, als das Serum in Verdünnung 1:400 (+++) agglutinierte und der Widal steigende Tendenz zeigte. Ebenso war eine sichere Diagnose in No. 1900 möglich, weil auch hier der Widal 1:400 (+++) stark positiv war. In beiden Fällen wurde das Agglutinationsergebnis durch den Ruhrbacillenbefund bestätigt.

Eine sichere serologische Diagnose der Pararuhr dürfte zu den Ausnahmefällen gehören. Es war mir nur in einem Falle (1982) möglich. Hierbei wurde der Titer 1:300 nicht einmal völlig erreicht (\pm), immerhin ließ sich doch mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit aus dem deutlichen Titeranstieg die Diagnose stellen. Wahrscheinlich hätte ich auch in anderen Fällen zweifelsfreie Diagnosen stellen können, wenn nicht nur ein- oder zweimal — wie es in den weitaus meisten Fällen geschah — sondern öfter Blut eingesandt worden wäre.

Aus der Tabelle V ist noch ersichtlich, daß eine scharfe serologische Trennung zwischen Ruhr und Pararuhr möglich ist, nicht aber zwischen den einzelnen Pararuhrinfektionen (Y, Flexner), da die Y-Patienten auch den Flexner-Typus in beträchtlichen Titerhöhen agglutinieren.

An dieser Stelle will ich einen Fall erwähnen, bei dem Autoagglutination und Widal-Reaktion von pathognostischer Bedeutung waren.

W. H., 8./76. L.-I.-R., 37 Jahre, Westpreuße, Beruf Arbeiter, erkrankt Ende November 1914 und wird unserer Station direkt vom Operationsgebiet zugeführt. Heftige Leibschmerzen, täglich etwa 12 blutig-schleimige Stühle. Temperatur zwischen 38 und 39° 3 Wochen hindurch.

Serumagglutination: Serumverdünnung 1:100 agglutiniert Ruhrbacillen.

Stuhluntersuchung: Auf Drigalski-Platten zahlreiche blaue Kolonien, die wegen ihrer Größe und ungewöhnlichen Dicke nicht für Ruhrkolonien gehalten werden. Negative Probeagglutination. Trotzdem auf Spezialnährböden übertragen, weil die Kolonien auffällig reichlich vorhanden sind. Verhalten auf Spezialnährböden wie Ruhrbacillen.

Autoagglutination mit Patientenserum 1:200 +.

Wiederholung der Serumagglutination: Verdünnung 1:400 agglutiniert (+++) Ruhrbacillen. Diagnose Ruhr gesichert!

Die Serumagglutination ließ keinen Zweifel mehr zu, daß wir es mit Ruhr zu tun hatten. Die Autoagglutination machte die Beteiligung des gefundenen Bacillus an der Infektion sehr wahrscheinlich. Orientierende Agglutinationen, mit verschiedenen Ruhrseris wiederholt angesetzt, bleiben auch nach längerem Verweilen im Brutschrank erfolglos. Die verdächtigen Bacillen ballen sich nicht zusammen.

Zur weiteren Prüfung werden frische und abgetötete Kulturen Kaninchen intravenös injiziert. Die Versuchstiere verenden nach wenigen Tagen, die mit abgetöteten Kulturen geimpften unter Intoxikationserscheinungen. Eine weitere Uebereinstimmung mit dem Ruhrbacillus! Darauf Röhrchenagglutination mit allen Seris. Nach zweistündigem Verweilen im Brutschrank keine Agglutination. Am nächsten Tage — die Röhrchen blieben bei Zimmertemperatur stehen — deutliche Agglutination mit dem Shiga-Kruse-Serum bis $\frac{1}{4}$ Titerhöhe. Somit war auch der letzte Beweis geführt. Es handelte sich um einen schwer agglutinierbaren, ungewöhnlich dicke Kolonien bildenden Ruhrbacillus.

Für die Verwendung des Agglutinationsergebnisses in der Diagnostik können wir nachstehende Regel aufstellen: Diagnostisch wertlos ist der Widal bis 1:100 + bei Ruhr, bis 1:200 + bei Pararuhr. Wahrscheinlichkeitsdiagnose läßt sich stellen, wenn der Widal mindestens 1:100 (+++) bei Ruhr und mindestens 1:200 (+++) bei Pararuhr ist. Sichere Diagnose kann nur gestellt werden, wenn der Widal mindestens 1:400 +++ bei Ruhr oder wenn er bei Ruhr und Pararuhr allmählich bis wenigstens 1:300 + ansteigt oder von 1:300 abfällt (Spätdiagnose).

Serumtherapie.

In den ersten Kriegsmonaten hatten wir wiederholt Gelegenheit, Heilserum anzuwenden (polyvalentes Serum der Sächsischen Serum-Werke).

Es wurde in Mengen von 10 und 20 ccm subkutan in den Oberschenkel injiziert. Die Resorption erfolgte ohne nennenswerte lokale Reizerscheinungen. Nur in 2 Fällen bildete sich um die Impfstelle eine handtellergroße, auf Druck schmerzhaft Rötung, die nach 2–3 Tagen wieder verschwand.

Die subjektiven Beschwerden besserten sich nach der Injektion sofort, die Zahl der Stühle ging bisweilen schnell zurück, aber die Dauer der Krankheit blieb unverändert.

Die Serumbehandlung bringt zweifellos den meisten Patienten gewisse Erleichterungen, aber keine schnellere Wiederherstellung ihrer Gesundheit und Dienstfähigkeit. Die Anwendung des Heilserums in der militärärztlichen Therapie empfiehlt sich nur in seltenen, prognostisch ungünstigen Fällen.

Zusammenfassung.

1) Im Interesse einer wissenschaftlichen Seuchenforschung und aus praktisch-medizinischen Gründen müssen wir gegenwärtig die infektiösen Colitiden nach ihrer Aetiologie in Ruhr, Pararuhr und Colitis haemorrhagica trennen.

2) Bei der Bestimmung der Erreger ist ihr biologisches (kulturelles und serologisches) Verhalten, ihre morphologische Beschaffenheit, Beweglichkeit, Virulenz und Färbbarkeit zu prüfen. Die Agglutination allein gestattet kein zuverlässiges Urteil, da Mit- und Paragglutinationen vorkommen, die zu Fehldiagnosen führen können.

3) Die Widal-Reaktion läßt sich mit sehr gutem Erfolg bei Ruhr, mit weniger guten Resultaten bei Pararuhr anwenden.

4) Heilserum hat für die militärärztliche Therapie der Ruhr und Pararuhr im Kriege keine praktische Bedeutung.

Literaturverzeichnis.

- 1) Shiga, K., Centralbl. f. Bakt., 1898, Bd. 23, H. 14.
- 2) Kruse, W., Deutsche med. Wochenschr., 1900, H. 40.
- 3) Flexner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, 1900.
- 4) Hiss, P. H., and Russel, F. F., Med. News New York, Vol. 82, 7, 1903.
- 5) Strong, L. W., and Musgrane, Report of the etiology of the dysenteries of Manila. Bericht an das Kriegsministerium, Washington 1900.
- 6) Aronson, Berlin. med. Wochenschr., 1915.
- 7) Kruse, Deutsche med. Wochenschr., 1915.
- 8) Liefmann, H., u. Nieter, A., Münch. med. Wochenschr., 1900, No. 43.
- 9) Doepter, Bullet. de l'Inst. Pasteur, 1906, No. 1 et 2.
- 10) Lentz, O., Handb. d. path. Mikroorg. von Kolle-Wassermann, 1909.
- 11) Verzá, F., und Weczeczký, O., Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 8.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institute der Deutschen Universität Prag.]

Versuche über Choleraantitoxin.

Von Professor Dr. **Oskar Bail.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Juli 1916.)

In einer vorhergegangenen Mitteilung über die Wirkung normaler Leukocyten auf das Gift des Vibrionenstammes „Kadikjöji“¹⁾ war einerseits auf die Herstellungsweise eines stark giftigen Vibrionenauszeuges hingewiesen worden, andererseits auf die Möglichkeit, mit Hilfe desselben Meerschweinchen giftfest zu machen und von ihnen dann ein Serum zu erhalten, dessen rein antitoxische Eigenschaften nicht bezweifelt werden können. Hierüber dürfte die Anführung weiterer Versuche von einigem Interesse sein.

Zur Immunisierung wurden zuerst nur Meerschweinchen verwendet, und zwar jene, welche in großer Zahl bei den Versuchen über antitoxische Zellwirkung überlebt, d. h. mindestens die einfach tödliche Menge von Gift, seltener von lebenden Vibrionen, meist bei Einspritzung in die Bauchhöhle überstanden hatten.

Das erste Tier, welches zur Serumgewinnung diente, trug die Nummer 109. Es hatte als Kontrolle zu einem Versuche mit lebenden Vibrionen am 5. XI. 1915 $\frac{1}{2}$ Kultur lebender Vibrionen mit bakterizidem Immunsérum erhalten und wider Erwarten nach schwerster Krankheit überlebt. Am 16. XI. erhielt es nach einer 12 Stunden vorher durchgeführten Bouilloneinspritzung (antitoxische Wirkung der in der Bauchhöhle angesammelten Zellen) 0,8 ccm Gift IV, überlebte nach schwerer Krankheit, ebenso am 15. XII. die Einspritzung von 3 ccm Gift VIIa, welches $\frac{1}{2}$ Stunde vorher mit Leukocyten behandelt worden war. Am 2. I. 1916 ertrug es 0,5 ccm Gift X (mindestens 4-fach tödlich) ohne Schaden, am 16. I. 1,2 ccm Gift XI. Am 25. I. wurde es nach vorangegangener Einspritzung von viel Bouillon in die Bauchhöhle verblutet.

Das frische Serum wurde durch Herstellung folgender Mischungen auf seine antitoxische Wirkung geprüft:

1) Diese Zeitschr., Bd. 25, p. 248.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XXVI.

- | | | | |
|----|------------------|--------------------|-------------------------------|
| 1) | 0,5 ccm Gift XII | + 0,2 ccm Ser. 109 | + 1,0 ccm Normalmeersch.-Ser. |
| 2) | 0,5 " " | + 0,6 " " | + 0,6 " " |
| 3) | 0,5 " " | + 1,2 " " | + 0 " " |
| 4) | 0,5 " " | + 0 " " | + 1,2 " " |

Während $\frac{1}{2}$ -ständigen Stehens bei 37° entstanden in 1—3 zunehmende Trübungen, 4 blieb klar. Die 3 Tiere 359—361, welche die Proben 1—3 intraperitoneal erhielten, wiesen zu keiner Zeit merkbare Krankheitserscheinungen auf, das um etwa 80 g schwerere Kontrolltier 362 erkrankte anscheinend ganz hoffnungslos, erholte sich aber doch wider alles Erwarten.

Als vollständig gelungen kann der Versuch noch nicht gelten, da das Ueberleben des Kontrolltieres erkennen läßt, daß die Giftmenge auch für die, allerdings beträchtlich kleineren, Versuchstiere eben nur knapp tödlich gewesen sein kann¹⁾, in bezug auf das Ausbleiben jeder Krankheit aber war der Versuch, der sofort durch andere ergänzt wurde, ganz beweisend.

Es wurden folgende Mischungen hergestellt:

- 1) 0,75 ccm Gift XII + 0,75 ccm NaCl-Lösung + 0,1 ccm Serum 109 + 0,4 ccm Normalmeerschweinchenserum.
- 2) 0,75 ccm Gift XII + 0,75 ccm NaCl-Lösung + 0,5 ccm Serum 109 + 0 ccm Normalmeerschweinchenserum.
- 3) 0,75 ccm Gift XII + 0,75 ccm NaCl-Lösung + 0,1 ccm Wiener Immuns-
serum + 0,4 ccm Normalmeerschweinchenserum.
- 4) 0,75 ccm Gift XII + 0,75 ccm NaCl-Lösung + 0,5 ccm Wiener Immun-
serum + 0 ccm Normalmeerschweinchenserum.
- 5) 0,75 ccm Gift XII + 0,75 ccm NaCl-Lösung + 0 ccm Wiener Immun-
serum + 0,5 ccm Normalmeerschweinchenserum.

Während eines $\frac{1}{2}$ -ständigen Stehens bei 37° wurden die Proben 1 und 2 merkbar trüb, 3 und 4 ebenfalls, aber schwächer, 5 blieb klar. Das benutzte „Wiener Immuns-“ (Serotherapeutisches Institut) ist ein hochwertiges agglutinierendes und bakterizides Pferdeserum.

Die beiden Meerschweinchen 363 und 364, welche die Proben 1 und 2 erhalten hatten, blieben ohne merkbare Krankheit, 367 mit Probe 5 starb nach 9 Stunden, 365 mit Probe 3 nach 23 Stunden, 366 mit Probe 4 in der gleichen Nacht, nach 11—19 Stunden; diese alle wiesen die bezeichnenden Krankheitserscheinungen auf. Bezüglich des Befundes am toten Tiere gilt für alle Versuche, daß die nach weniger als einem Tage gestorbenen Tiere sehr zellarmes und steriles Exsudat bei schwerer Ent-

1) Es war bei dem großen Mangel an Versuchstieren nicht immer möglich, die zweckmäßige Vorschrift der Versuchstiergröße von 200 g einzuhalten. Soviel als nur anging, sind aber als eigentliche Versuchstiere Meerschweinchen dieser Größe benutzt worden, während die Kontrolltiere öfters um 50 g und selbst mehr schwerer waren. In der Regel wurde dadurch der Versuchsverlauf nicht beeinträchtigt.

zündung der serösen Häute zeigten, bei längerem Leben waren im sterilen Exsudate mehr oder weniger Leukocyten vorhanden.

Es hatte somit das Serum 109 die binnen wenigen Stunden tödliche Giftmenge schon in der Gabe von 0,1 ccm ganz unschädlich machen können, während normales Meerschweinchen-serum vollkommen wirkungslos war und bakterizides, sehr hochwertiges Immunserum den Tod nur wenig zu verzögern vermochte. Dazu ist noch zu bemerken, daß Niederschlagbildung sowohl bei Vermischung von Serum 109 wie von Wiener Immunserum mit der Giftlösung eingetreten war.

Ueberhaupt ist zu erwähnen, daß zwar gelegentlich das Wiener Immunpferdeserum in größeren Gaben gegen geringe Giftmengen zu schützen vermochte, daß aber dieser Schutz nichts weniger als sicher war; auch scheint das Pferdeserum schon normal eine gewisse antitoxische Wirkung zu besitzen, worüber jedoch genauere Versuche noch nicht vorliegen.

Das Tier 109 hatte, wie erwähnt, vor der Verblutung eine Einspritzung von viel steriler Bouillon erhalten und reichlich zellreiches Exsudat geliefert. Zellen und durch Ausschleudern zellfrei gemachte Exsudatflüssigkeit wurden nun ebenfalls auf Antitoxingehalt geprüft. Der Versuch erschien wegen der ausgesprochenen Giftwidrigkeit der normalen Meerschweinchenleukocyten, welche eine Steigerung durch den Immunisierungsvorgang erwarten ließ, von Wichtigkeit.

Es wurden Aufschwemmungen der Leukocyten 109 und solcher eines normalen Meerschweinchens, die gleiche Gewichtsmengen von Zellen enthielten, mit Gift XII $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten und hierauf die Zellen entfernt.

- | | | | | | |
|----|--------|------------------|---|-------|---------------|
| 1) | 0,01 g | Leukocyten 109 | + | 1 ccm | Gift XII. |
| 2) | 0,05 " | " | + | 1 " | " " |
| 3) | 0,1 " | " | + | 1 " | " " |
| 4) | 0,01 " | Normalleukocyten | + | 1 ccm | " Gift " XII. |
| 5) | 0,05 " | " | + | 1 " | " " |
| 6) | 0,1 " | " | + | 1 " | " " |

Während des Aufenthaltes im Wasserbade trat sehr starke Zusammenballung der Leukocyten ein, wovon die von 109 noch stärker betroffen waren.

Die Tiere 343 mit dem Abgusse von 1 und 346 mit dem von 4 waren am Versuchsnachmittage schwer krank und starben in der gleichen Nacht; dasselbe war der Fall mit No. 347, welches den Abguß 5 erhalten hatte. No. 344 mit dem Abgusse von 2 wurde schwerst krank, überlebte zunächst, blieb aber elend, um nach etwa einem Monate marastisch einzugehen. Die

Tiere 345 und 348 mit den Abgüssen 3 und 6 überlebten zunächst nach leichter Krankheit, starben aber nach 2 und 3 Tagen.

Der Versuch ist ganz klar in dem Sinne ausgefallen, daß durch die Immunisierung eine Erhöhung der schon normal in den Leukocyten vorhandenen antitoxischen Wirkung in keiner Weise nachweisbar wird. Es ist ähnlich wie bei der Untersuchung bakterizider Zellwirkungen, die, selbst wenn sie im normalen Tiere sehr stark ausgesprochen sind, durch spezifische Immunisierung sich nicht erhöhen lassen.

Hingegen kommen dem flüssigen Anteile des Bauchhöhlensudates immuner Tiere deutliche antitoxische Fähigkeiten zu.

Es werden folgende Mischungen von Gift mit der zellfreien Exsudatflüssigkeit 109 hergestellt:

- | | | | | | |
|----|-------------------|---|------------------------|-------|--------------------------|
| 1) | 0,75 ccm Gift XII | + | 0,1 ccm Exsudatfl. 109 | + | 0,9 ccm Normalexsudatfl. |
| 2) | 0,75 " | " | + | 0,5 " | " |
| 3) | 0,75 " | " | + | 1,0 " | " |
| 4) | 0,75 " | " | + | 0 " | " |

Während $\frac{1}{2}$ -ständigen Aufenthaltes bei 37° entstand in 1—3 deutliche, geringe Trübung, 4 blieb klar.

Von den Tieren, welche diese Mischungen intraperitoneal erhielten, starb 371 mit 4) in der Nacht des Versuchstages, 370 mit 3) blieb ohne Krankheit, das Tier 369 mit 2) zeigte zunächst keine bedrohliche Krankheit, starb aber nach $3\frac{1}{2}$ Tagen, 368 mit 1) wurde schwer krank und blieb es bis zu seinem Tode nach 2 Tagen.

Es ist somit sicher festzustellen, daß die antitoxischen Fähigkeiten in den Körpersäften von Meerschweinchen normalerweise nicht nachweisbar sind, aber infolge der Immunisierung entstehen, im Serum stärker als in sonstigen Körperflüssigkeiten.

Mischungen von Exsudatflüssigkeit und von Serum No. 109 dienten dann zu einem Vergleiche der schützenden und heilenden Wirkung des dargestellten Choleraantitoxins.

In der Mischung überwog die Menge der Exsudatflüssigkeit weitaus die des Serums.

Meerschw. 372 erhielt 0,05 ccm des Antitoxins, gleich darauf 0,8 ccm Gift XII intraperitoneal. Es war am Nachmittage deutlich krank und starb in der Nacht.

Meerschw. 373 und 374, welche erst 0,15 bzw. 0,3 ccm Antitoxin und gleich danach 0,8 ccm Gift XII erhielten, blieben ohne deutliche Krankheit, doch starb No. 373 nach 4 Tagen marastisch.

Meerschw. 374 als Kontrolle mit 0,3 ccm Normalexsudatflüssigkeit wurde in typischer Weise schwer krank und starb in der Nacht.

Die unmittelbar schützende Wirkung des Antitoxins liegt somit bei etwa 0,15 ccm.

Die Tiere 376, 377, 378 erhielten je 0,8 ccm Gift XII; 376 erhielt $\frac{1}{2}$ Stunde später 0,15 ccm Antitoxin, wurde sehr krank, überlebte aber durch 28 Stunden. No. 377, welches $\frac{1}{2}$ Stunde nach dem Gift die Menge von 0,5 ccm, und 378, das 1 ccm Antitoxin erhielt, starben beide in der gleichen Nacht des Versuchstages.

Während somit die schützende Wirkung recht ansehnlich ist, kann man von einer nennenswerten Heilwirkung schon $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Giftaufnahme kaum sprechen. Sehr auffallend ist dabei, daß, wenn eine solche überhaupt hervortritt, sie bei dem Tiere mit der geringsten Antitoxinmenge zu spüren ist, während größere Mengen, die etwa das Sechsfache der schützenden Gabe betrug, keinerlei Unterschiede in Krankheit und Lebensdauer gegenüber dem Kontrolltiere ergaben. Der gleiche Mangel der Heilwirkung trat bei Versuchen mit lebenden Choleravibrionen hervor. Allerdings war zu dieser Zeit die Infektiosität der Kadikjökikultur trotz ihrer starken Giftigkeit sehr gering, so daß bei normalen Tieren von etwa 200—250 g selbst nach Einspritzung von $\frac{1}{6}$ Kultur, welche innerhalb 6—10 Stunden tötete, eine Vermehrung der Vibrionen in der Bauchhöhle, wo sie mikroskopisch nur ganz spärlich aufzufinden waren, nicht eintrat. Aber auch mit dieser Kultur konnte nach 2 Stunden die Einführung von Antitoxin 109 ebensowenig lebensrettend wirken wie die von hohen Gaben bakteriziden Immunserums.

Was die sonstigen Eigenschaften des antitoxischen Serums 109 betrifft, so war seine Agglutinationswirkung auf Vibrionen gut, ohne besonders hervorragend zu sein; 0,005 ccm davon agglutinierten 1 ccm Aufschwemmung lebender Vibrionen (1 Kultur auf 25 ccm NaCl-Lösung) bis zur vollständigen Klarheit, unvollständige Agglutination trat bis 0,0005 ccm ein. Präzipitation im giftigen Auszuge trat bei seiner Anwendung in reinem Zustande sehr sinnfällig ein, bei einer Verdünnung desselben bis 1:100 war sie kaum mehr zu merken (immer 0,1 ccm Serum auf 0,5 ccm Gift, bzw. dessen Verdünnungen mit NaCl-Lösung).

Von Interesse war die antihämolytische Wirkung. Der *Vibrio Kadikjōji* bewirkt bei seinem Wachstum auf Agarplatten mit Meerschweinchen- oder Schafblut eine überaus kräftige

Blutlösung, und die giftigen Vibrionenauszüge stellen ein sehr wirksames Lösungsmittel für diese Blutarten dar.

So löste z. B. Gift XII in der Menge bis 0,025 ccm 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblut innerhalb $\frac{1}{4}$ Stunde, bis zu 0,005 ccm innerhalb $\frac{1}{2}$, bis 0,001 ccm innerhalb 2 Stunden vollständig auf.

Es wurden nun Mischungen der 10- und 100-fach lösenden Menge von Gift XII mit fallenden Mengen von Serum 109 hergestellt, etwa 10 Minuten bei Zimmertemperatur belassen und dann mit je 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblut versetzt. Zum Vergleiche diente das in gleicher Menge angewendete bakterizide Wiener Immunserum.

	0,1 ccm Gift XII		0,01 ccm Gift XII	
	Serum 109	Wiener Serum	Serum 109	Wiener Serum
0,1 ccm	0	} + + +	0	} + + +
0,05 "	0		0	
0,01 "	0		0	
0,0075 "	0		0	
0,005 "	+ + +		0	
0,0025 "	+ + +		0	
0,001 "	+ + +		0	

Bei Zusatz von Normalmeerschweinchenserum in den Mengen von 0,1–0,01 ccm trat sowohl bei 0,1 wie 0,01 ccm Gift XII vollständige Lösung ein.

Das hochwertige bakterizide Immunserum entbehrte somit der Schutzwirkung gegen Blutkörperchenlösung ebenso vollständig wie normales Meerschweinchenserum, während Serum 109 nicht nur sehr bedeutende solche Schutzwirkung erkennen läßt, sondern in dieser auch sichtlich dem Gesetze des Vielfachen gehorcht. Beispiele für andere, von Meerschweinchen erhaltene antitoxische Seren seien auszugsweise angeführt.

Meerschweinchen 103 hatte am 2. XI. 1915 nach vorhergegangener Bouilloneinspritzung $\frac{1}{4}$ Kultur lebender Cholera Kadikjöji mit wenig Wiener Immunserum erhalten und nach schwerer Krankheit ertragen. 15. XII. 3 ccm Gift VIIa, welche vorher $\frac{1}{4}$ Stunde mit Leukocyten behandelt worden waren; schwere Krankheit, überlebt; 2. I. 1916 0,3 ccm Gift XI, 16. I. 0,8 ccm Gift XI, 31. I. 1,5 ccm Gift XIII immer schadlos ertragen; 12. II. verblutet.

Die Tiere 402, 403 und 404, welche je 0,5 ccm Gift XIV (mindestens 5-fach tödlich) mit 0,01, 0,05 und 0,1 ccm des Serums 103 (unmittelbar vor der Einspritzung gemischt) erhielten, starben in der Nacht des Versuchstages, ebenso das Kontrolltier 406, während 405 mit 0,25 ccm Serum ohne besondere Krankheit überlebte.

Die Antitoxindarstellung war somit auch in diesem Falle gelungen, bei dem die Grundimmunität durch Behandlung mit lebenden Bakterien

herbeigeführt worden war; die schützende Serumwirkung ist etwas schwächer, wobei allerdings Gift und Gegengift vorher nicht außerhalb des Tierkörpers aufeinander einwirken konnten.

Meerschweinchen 105 hatte am 3. XI. 1915 $\frac{1}{2}$ Kultur lebender Cholera Kadikjöji mit gefrorenen Leukocyten erhalten; 15. XI. nach vorangegangener Bouilloneinspritzung $\frac{1}{2}$ Kultur; überlebt; 15. XII. 3 ccm Gift VIIa nach Behandlung mit Leukocyten während $\frac{1}{2}$ Stunde; 23. I. 1916 0,4 ccm Gift X; 16. I. 1 ccm Gift XI und 31. I. 1,5 ccm Gift XIII ohne Krankheit; 13. II. nach vorangegangener Einspritzung von steriler Bouillon verblutet.

Die aus dem Exsudate dieses Tieres und eines entsprechend vorbehandelten Kontrolltieres gewonnenen Leukocyten in den Mengen von 0,01, 0,05 und 0,1 g wurden zur halbstündigen Behandlung von je 0,3 ccm Gift XIV (3-fach tödlich) verwendet. Die Einspritzung der Abgüsse von den Leukocyten des Kontrolltieres tötete alle Versuchstiere in der gleichen Nacht, ebenso verderblich wirkten die Abgüsse von 0,01 und 0,05 g Zellen 105, nur das Tier 415, welches den Abguß von 0,1 g Leukocyten 105 erhalten hatte, überlebte nach schwerster Krankheit.

Es wurden ferner Milz (ganzes Organ), etwa 1 g Leber und 1 Hoden des Tieres 105 und des Kontrolltieres in feiner Verreibung mit je 0,3 ccm des gleichen Giftes $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt; die Abgüsse töteten alle Versuchstiere in der Nacht des Versuchstages.

Damit ist für Körperzellen immunisierter Tiere überhaupt der Beweis geliefert, daß Antitoxine an ihnen in nennenswerten Mengen nicht haften; wäre das der Fall, so müßten sie Gift stärker absorbiert haben. Hingegen wiesen wieder die Körperflüssigkeiten von No. 105 einen ausgesprochenen Antitoxinwert auf.

Es wurden Mischungen von je 0,3 ccm Gift mit 0,05, 0,1 und 0,2 ccm Serum 105 nach $\frac{1}{2}$ -stündiger gegenseitiger Einwirkung bei 37° eingespritzt. No. 420 mit 0,05 ccm Serum starb nach 25 Stunden, 421 und 422 mit 0,1 und 0,2 ccm Serum 105 zeigten keine Krankheit und schienen ganz ungefährdet, starben aber marastisch nach 3 und 4 Tagen, während das Kontrolltier in der Versuchsnacht erlag. Auf gleiche Weise hergestellte Mischungen der Exsudatflüssigkeit 105 in den Gaben von 0,1, 0,25 und 0,5 ccm zeigten genau das gleiche Verhalten, normale Exsudatflüssigkeit in der Menge von 0,5 ccm gewährte keinerlei Schutz.

Weitere Versuche wurden mit einem als Serum 103/5 hergestelltem Mischantitoxin angestellt.

Dasselbe war zusammengesetzt aus 8 ccm Serum 105, 9,5 ccm Serum 103 und 25 ccm Exsudatflüssigkeit 105. Es zeigte eine überraschend geringe Agglutinationskraft, da es 1 ccm der gebräuchlichen Vibrionenaufschwemmung mit 0,05 ccm eben knapp zur vollständigen Klarheit zusammenballte, bei 0,001 ccm kaum noch spurenweise wirksam war. Auch die Präzipitation

war außerordentlich schwach und trat nur gegenüber reinen Giftlösungen schwach in Erscheinung, während Verdünnungen klar blieben; hingegen war die antihämolytische Wirkung sehr gut.

Zum Versuche wird je 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblut verwendet; Gift und Gegengift konnten vorher aufeinander nicht einwirken, da in die einzelnen Röhrchen erst das Antitoxin, dann das Blut und zuletzt erst das Gift kam.

	0,2	0,1	0,05	0,01	0,005 ccm Gift XV.
Ohne Antitoxin	+++	+++	+++	+++	+++
0,2 ccm Ser. 103/5	0	0	0	0	0
0,1 " " "	0	0	0	0	0
0,05 " " "	Sp.	0	0	0	0
0,01 " " "	+++	+++	++	0	0

Für alle Versuche bedeutet +++ klare, vollständig, ++ starke, + deutliche, Sp. ganz geringe, 0 keine Lösung.

Zu bemerken ist, daß 0,2 und 0,1 ccm Gift schon nach 3, 0,05 ccm nach 7, 0,01 ccm in 15, 0,005 ccm nach 30 Minuten vollständig gelöst hatten; das Versuchsergebnis ist nach 2-stündigem Aufenthalte bei 37° verzeichnet.

Im Versuche hat allerdings eine vollkommene Austitrierung bis auf die letzten lösenden, bzw. schützenden Mengen von Gift und Gegengift nicht stattgefunden, dafür gibt der Versuch aber nicht nur die antihämolytische Serumwirkung sehr schön zu erkennen, sondern auch deren genaue Befolgung des Gesetzes vom Vielfachen.

Die Auswertung von Serum 103,5 im Tierversuche bei Einspritzung in die Bauchhöhle erfolgte ebenfalls mit Gift XV, von dem 0,05 ccm ein Tier, 428 schwer krank gemacht, 0,1 ccm No. 429 in 30 Stunden, 0,25 ccm No. 430 nach weniger als 12 Stunden getötet hatte. Die Versuchsmenge wurde danach mit 0,5 ccm bemessen. Dagegen war No. 431 mit 0,1 ccm Serum 103,5 nach Krankheit, 432 und 433 mit 0,25 und 0,5 ccm ohne sichtbare Krankheit geschützt. No. 433 starb aber nachträglich nach etwa 2½ Tagen, also wiederum ein „paradoxes“ Verhalten, wie es schon oben erwähnt wurde und später noch zu besprechen sein wird.

Ueber die Antitoxinwirkung bei Einspritzung unter die Haut gibt der folgende Versuch Aufschluß. Was die Wirkung des Giftes allein bei subkutaner Einspritzung betrifft, so ist hervorzuheben, daß dieselbe weniger als bei Einspritzung in die Bauchhöhle hervortritt, soweit der Tod der Versuchstiere in Betracht kommt. Auch Gaben, welche die von dort aus tödlichen 5- und mehrfach übertreffen, töten in der Regel nicht rasch, sondern erst nach mehreren, meist nicht vorauszusagenden Tagen. Am Orte der Einspritzung entstehen aber sehr starke Reaktionen, welche schon bei verhältnismäßig geringen Giftmengen, immer in der Mitte des sich zunächst bildenden

Oedems und Infiltrates zur Nekrose führen, die nachträglich weiterschreiten und zur Bildung sehr umfänglicher Geschwüre führen kann.

Meerschw. 438 erhielt 0,75 ccm Gift XV mit 0,5 ccm Normalmeerschweinchenserum unter die Bauchhaut. Am Abende und nächsten Tage hatte sich ein mächtiges, derbes abgegrenztes, in der Mitte blutiges Oedem gebildet. Am 2. Tage Nekrose der Mitte des hart gewordenen Infiltrates, am 3. Tage starb das Tier mit mächtigem nekrotischen Geschwür, kein Befund in inneren Organen.

Meerschw. 435 erhielt 0,75 ccm Gift XV mit 0,1 ccm Serum 103/5 und 0,4 ccm Normalserum unter die Bauchhaut. Am Abende und nächsten Tage begrenztes, derbes Oedem, das am 2. Tage zu einem strangförmigen Infiltrate wurde, das sich ohne Nekrose aufsaugte.

Meerschw. 436 wie Meerschw. 435 mit 0,25 ccm Serum 103/5 und ebensoviel Normalserum. Es entwickelte sich nur ein geringes Oedem, das am 2. Tage verhärtete und bald verschwand.

Meerschw. 437 wie Meerschw. 435 mit 0,5 ccm Serum 103/5. Am nächsten Tage Oedem, das auffällig viel stärker war als das von 436 und selbst von 435. Es wurde zu einem umfänglichen, harten Infiltrate, das langsam, mit einer sehr kleinen mittleren Nekrose verschwand.

Die antitoxische Serumwirkung ist somit auch bei dieser Anwendungsweise sehr deutlich, wobei allerdings nicht jede Hautreaktion zu vermeiden ist; aber insbesondere das Ausbleiben von Nekrose ist sehr bezeichnend. Dabei war in dem Hautversuche, ebenso wie in dem in der Bauchhöhle, das sonderbare Verhalten größerer Serummengen bezeichnend, die ganz entschieden einen schlechteren Erfolg hatten als um die Hälfte geringere.

Bei dem Serum 103/5 wurde auch zum ersten Male eine gewisse, freilich sehr beschränkte Heilwirkung festgestellt.

Meerschw. 439 erhielt erst 0,6 ccm Gift XV, 5 Minuten später 0,25 ccm Serum 103 5; Meerschw. 440 ebenso intraperitoneal vergiftet, erhielt 1 Stunde später 0,75 ccm Serum 103,5; beide Tiere wurden zwar krank, waren aber am nächsten Tage erholt. 2 Stunden nach der Vergiftung konnte Meerschw. 441 durch 1,5 ccm Serum nicht mehr gerettet werden, sondern starb gleichzeitig mit dem Kontrolltiere 442, welches nach der Vergiftung nur Normalserum erhalten hatte und in der Versuchsnacht starb.

Das im folgenden kurz beschriebene Serum 173 stammte von einem Tiere, welches ausschließlich nur mit Giftlösungen vorbehandelt war.

Meerschw. 173 erhielt 25. XI. 1915 0,8 ccm Gift V, gleichzeitig mit einem Auszug aus gefrorenen Leukocyten; es überlebte nach schwerer

Krankheit. 2. I. 1916 0,3 ccm Gift X mit 0,002 ccm Wiener Immuneserum intrap.; 16. I. 0,5 ccm Gift XI mit 0,002 ccm Wiener Immuneserum intrap.; 31. I. 1,5 ccm Gift XIII intrap.; 28. II. 3 ccm Gift XV/XVI intrap.; 11. III. entblutet.

Die antihämolytische Wirkung wurde gegen Gift XVIII und Schafblut geprüft; dieses wird ebenfalls sehr stark, aber schwächer als Meerschweinchenblut vom Vibrionengift gelöst, auch erfolgt die Lösung langsamer. Das Gift XVIII löste innerhalb 2 Stunden mit 0,005 ccm 1 ccm 5-proz. Schafblut vollständig. Gegen die Verdoppelung dieser Menge (0,01 ccm Gift) schützte 0,0025 ccm Serum 173 vollständig, bis zu 0,00075 ccm war noch teilweise Schutzwirkung zu erkennen; gegen 0,2 ccm Gift, also die etwa 40-fach lösende Menge, vermochte erst 0,05 ccm Serum 173 einen teilweisen Schutz zu geben.

Ein weiterer Versuch ist deshalb von Interesse, weil er mit den gewaschenen Blutkörperchen des Meerschweinchens 173 selbst angestellt ist. Diese waren an sich vollständig empfindlich und wurden durch 0,2, 0,1, 0,05 und 0,01 ccm Gift innerhalb Minuten gelöst. Gegen 0,01 ccm Gift schützte Serum 173 seine eigenen Blutkörperchen mit 0,001—0,005 ccm, gegen 0,05 ccm mit 0,01—0,05 ccm, gegen 0,1 ccm mit 0,05 ccm nicht ganz vollständig, gegen 0,2 ccm nur 0,05 ccm spurenweiser Schutz.

Es bleiben somit die Blutkörperchen eines gegen Kadikjöjgift immunen Tieres an sich vollständig giftempfindlich, und nur das in der Blutflüssigkeit enthaltene Antihämolysin schützt sie, so wie normale Blutkörperchen vor Auflösung.

Die Auswertung des Serums 173 im Tierversuche ergab, daß 0,1 ccm Serum gegen 0,6 ccm Gift XVIII (Kontrolltier 458 stirbt in weniger als 7 Stunden) teilweise schützte, indem Tier 454 zwar nach 26 Stunden starb, aber sehr starke Leukocytose des sterilen Bauchraums aufwies; die Tiere 455 und 456 mit 0,25 und 0,5 ccm Serum 173 blieben ohne Krankheit. Zum Versuche gehört noch No. 457, welches gleichzeitig (Mischung wie bei den anderen Tieren unmittelbar vor der Einspritzung) mit 0,6 ccm Gift 0,5 ccm bakterizides Wiener Immuneserum erhielt und nach 7 bis 9 Stunden starb.

Es erschien von Wichtigkeit, die Geltung des Gesetzes vom Vielfachen, welche für das antihämolytische Vermögen der antitoxischen Choleraseren klar hervortritt, auch für die schützende Wirkung im Tierversuche zu erweisen.

Zu diesem Zwecke erhielten die Tiere 459 und 460 je 0,6 ccm Gift XVIII intrap. No. 459 diente als Kontrolle und starb nach 10 Stunden. No. 460 erhielt mit dem Gifte 0,25 ccm Serum 173 und überlebte nach unbedeutender Krankheit. Die Tiere 461, 463 und 465 erhielten die doppelte Giftmenge, 1,2 ccm, und zwar mit 0,25 ccm Serum 173 (starb nach 7 Stunden), mit 0,5 ccm (zeigte Krankheit und besonders auffällig Lähmung der Hinterbeine, die vorüberging, und überlebte) und 0,75 ccm Serum 173

(überlebte nach geringer Krankheit). Die Tiere 462, 464 und 466 mit der 3-fachen Giftmenge konnten weder durch 0,25 noch durch 0,5 und 0,75 ccm Serum gerettet werden; doch lebte das letzte Tier bis zum nächsten Tage mit Eiter in der Bauchhöhle.

Die Geltung des Vielfachengesetzes ist schon in diesem Versuche, dem später noch beweisendere folgten, unzweideutig zu erkennen; die Bedeutung des Befundes wird weiter unten im Zusammenhange besprochen werden.

Der Heilwert von Serum 173 war zwar wenig befriedigend, immerhin aber doch in gewissem Grade nachweisbar. Die Tiere 467—470 erhielten um 8 Uhr früh je 0,6 ccm Gift XVIII in die Bauchhöhle (Kontrolle siehe das gleichzeitig geimpfte Tier des vorigen Versuches). No. 467 und 469 erhielten 1 und 2 Stunden später je 0,25 ccm Serum 173 ebenfalls intrap.; ersteres wurde schwer krank, überlebte aber schließlich, letzteres war schwerst krank, erholte sich dann etwas, starb verspätet, nach 2 Tagen. Die Tiere 468 und 470, welche ebenfalls nach 1 und 2 Stunden das heilende Serum, aber in der 4-fach größeren Menge von 1 ccm erhalten hatten, zeigten merkwürdigerweise keine Andeutung von Heilung und starben nach 12—20 Stunden!

Ein anderes Mischserum von 2 Tieren 161 und 166, welche nach Vorbehandlung mit durch Leukocyten abgeschwächtem Choleragift im Verlaufe von nicht ganz 3 Monaten je 10,5 ccm insgesamt Kadikjögift vertragen hatten, zeigte schon in der Menge von 0,025 ccm schützende Wirkung gegen die $1\frac{1}{2}$ -fache tödliche Giftmenge, hatte aber so gut wie keine heilende Kraft. Der antihämolytische Wert bei Verwendung von Meerschweinchenblut und Gift XXI (innerhalb 2 Stunden löste 0,0025 ccm vollständig, 0,001 ccm sehr stark) betrug bei der Versuchsanordnung, wo erst Schutzserum und Blut vermischt, dann das Gift zugesetzt wurde, bei 0,005 ccm Gift weniger als 0,0025 ccm Serum, ebenso gegen 0,01 ccm Gift; gegen 0,05 ccm Gift schützte erst 0,0075 ccm Serum. Von Interesse dürfte folgende Versuchsanordnung sein:

Es wurden Mischungen hergestellt:

- I. 0,1 ccm Gift XXI (etwa 40-fach lösend) + 0,7 ccm NaCl-Lösung + 0,02 ccm Serum 161/6 (in 0,2 ccm).
- II. 0,1 ccm Gift XXI (etwa 40-fach lösend) + 0,8 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Serum 161,6 (in 0,1 ccm).
- III. 0,1 ccm Gift XXI (etwa 40-fach lösend) + 0,85 ccm NaCl-Lösung + 0,005 ccm Serum 161,6 (in 0,05 ccm).
- IV. 0,1 ccm Gift XXI (etwa 40-fach lösend) + 0,7 ccm NaCl-Lösung + 0,002 ccm Serum 161,6 (in 0,2 ccm).
- V. 0,1 ccm Gift XXI (etwa 40-fach lösend) + 0,9 ccm NaCl-Lösung.

Nach 3-stündigem Stehen bei Zimmerwärme, wobei merkbare Niederschlagsbildung nicht eintrat, wurden fallende Mengen der Mischungen mit je 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblutes versetzt. Das Ergebnis ist nach 2 Stunden bei 37° verzeichnet:

Menge von	I	II	III	IV	V
0,5 ccm	0	0	+++	+++	+++
0,25 „	0	0	++	+++	+++
0,1 „	0	0	Sp $\frac{1}{2}$	++	+++
0,05 „	0	0	0	+	+++
0,025 „	0	0	0	0	fast +++

Auch bei dieser Versuchsanordnung, welche die Zahl der vorhandenen und durch die Serumwirkung vernichteten Dosen abzulesen gestattet, ist die Geltung des Vielfachengesetzes klar erkennbar.

Die in hinreichender Zahl angeführten Beispiele erfolgreich antitoxisch immunisierter Meerschweinchen belegen die Möglichkeit einer Antitoxingewinnung gegen Choleraendotoxin vollständig.

Was die Immunisierung selbst betrifft, so kann dieselbe nicht als besonders schwer bezeichnet werden, sie bedarf aber doch einer gewissen Sorgfalt. Sie ist sicher dadurch erleichtert worden, daß es infolge der früheren Ermittlungen möglich war, die Grundimmunität in fast gefahrloser Weise mittels Giften, die durch Leukocyten abgeschwächt waren, zu erreichen. Dabei soll keineswegs behauptet werden, daß es nicht auch durch sehr vorsichtig gesteigerte Anwendung von Reingift oder auch von Vibrionen selbst möglich wäre, bei Meerschweinchen zu Antitoxin zu gelangen; jedoch hatte Verfasser auf diese Weise nur Verluste, und kein Tier überlebte die dritte Gifteinspritzung. Verluste entstanden aber auch dann immer, wenn bei schon vorgeschrittener Immunität die Reingiftmengen höher, 4 ccm und mehr wurden; selbst Tiere, die nach ganz in gleicher Weise behandelten Paralleltieren zu schließen (z. B. solche zu No. 161 und 166), reichlich Antitoxin im Blute haben mußten, erlagen diesen Giftmengen fast immer und meist in so kurzer Zeit, daß von einer Immunität anscheinend keine Rede war.

Ob die geringe Heilwirkung, welche die sehr gut schützenden Seren zeigten, darauf beruhte, daß die Immunisierung nicht weit genug geführt war, ist zurzeit noch nicht zu sagen. Jedenfalls erwiesen sich die gegen Gift geschützten Meerschweinchen auch hochgradig immun gegen die Wirkung lebender Vibrionen. So vertrugen Tiere, die ähnlich weit wie No. 161 immunisiert waren, ohne Schaden die Einspritzung einer ganzen Agarkultur lebender Cholera Kadikjöji, zu einer

Zeit, wo weniger als $\frac{1}{35}$ einer solchen Kultur ein Meerschweinchen von 200 g in wenigen Stunden tötete. Bei einer Steigerung darüber hinaus kamen aber wieder Verluste und solche traten auch ein, wenn größere Mengen von vibrionenhaltigem Exsudate infizierter Meerschweinchen angewendet wurden. Solche Exsudate enthalten außer den Vibrionen stets auch gelöstes Gift, doch ist die Menge desselben niemals eine besonders hohe gewesen. Vom zentrifugierten, sehr vibrionenarm gewordenen Exsudate, welches unter Zusatz von geringen Mengen Wiener Immunserums eingespritzt wurde, um eine Vibrionenvermehrung auszuschließen, tötete niemals weniger als 0,5 ccm; 0,25 ccm reichten hin, um schwere Krankheit zu erzeugen.

Was die Erfahrungen an anderen Tieren betrifft, so haben sich Kaninchen nicht bewährt. Es ist bekannt, daß sie gegen Endotoxine überhaupt sehr empfindlich sind, und namentlich Kraus hat bei seinen Versuchen Kaninchen mit Vorliebe und Erfolg benutzen können. Leider machten es die Zeitverhältnisse ganz unmöglich, diese Tiere, welche infolgedessen ein ausgezeichnete Prüfungsgegenstand für Antitoxinwirkung sein müßten, heranzuziehen. Ihre Empfindlichkeit erwiesen sie aber doch, bei Versuchen zur aktiven Immunisierung. Schon Gaben von etwa 0,01 ccm Reingift wurden sehr schlecht vertragen; die Tiere starben schon nach wenigen Tagen oder marastisch nach längerer Zeit. Gift, welches mit Meerschweinchenleukocyten behandelt war, ertrugen sie bis zur Menge von $\frac{1}{2}$ ccm ohne Schaden, waren aber dadurch gegen die schädliche Wirkung kleiner Reingiftmengen nicht unempfindlich geworden. Als es schließlich unter Einschlebung sehr langer Erholungsfristen zwischen die einzelnen Einspritzungen gelungen war, ein großes Kaninchen 0,25 ccm Gift vertragen zu lassen, erwies sich das gewonnene Serum so gut wie wirkungslos. Es läßt sich somit bisher über die Antitoxinbildung durch das Kaninchen ein Urteil nicht abgeben.

Hingegen ergab die Immunisierung eines Schafes sehr beachtenswerte antitoxische Seren.

Das Schaf war etwa 10 Jahre alt und hatte schon früher zur Gewinnung eines Milzbrandserums gedient. Die Gifteinspritzungen, welche

mit einer unvorsichtig hohen Gabe von Gift eingeleitet wurden, erfolgten sämtlich unter die Haut an der Innenseite der Ober- und Unterschenkel. 31. I. 2 ccm Reingift XIII Oberschenkel. Das Tier wurde sehr krank, am Orte der Einspritzung entwickelte sich wie auch bei den späteren Behandlungen ein Oedem, das sehr bald hart wurde und in lange bestehende Infiltrate überging, welche sich sehr langsam verkleinerten und nie zu Eiterungen führten. Die vollständige Aufsaugung derselben wurde nicht abgewartet. 8. II. 5 ccm Gift XIV, welches $\frac{1}{2}$ Stunde mit 0,15 g Meerschweinchenleukocyten behandelt war; keine allgemeine, wenig örtliche Reaktion. 14. II. 5 ccm Reingift XIV, allgemeine und örtliche Reaktion. 21. II. 8 ccm Reingift XV, ebenso; 12. III. 10 ccm Gift XVIII, schwere allgemeine und örtliche Reaktion; 3. IV. 18 ccm Gift XXI; 12. IV. erste Blutentnahme, gibt Serum I. 14. IV. 20 ccm Gift XXII; danach ist das Tier auf den Hinterbeinen vollständig gelähmt, die Lähmung geht nicht mehr zurück, sonst ist das Befinden gut; 1. V. neuerliche Blutentnahme, gibt Serum II. Gleich danach wieder 20 ccm Gift XXIV. Es schließt sich eine Lähmung auch der Vorderbeine an, die zwar wieder zurückgeht, ohne aber sich vollständig zu verlieren. Da dadurch die Nahrungsaufnahme sehr behindert ist, wird am 16. V. das letzte Serum III gewonnen. Bei der Eröffnung außer sehr starker Abmagerung kein auffälliger Befund.

Das Serum I wurde gegen 0,35 ccm Gift XXIII ausgewertet (0,1 ccm davon macht ein Meerschweinchen schwer krank, 0,25 ccm tötete in wenigen Stunden). Das Kontrolltier 502 starb in der gleichen Nacht, die Tiere 507, 508 und 509 mit 0,1, 0,25 und 0,5 ccm Serum blieben ohne Krankheit, ebenso wie die Tiere 510 und 511, welche mit der gleichen Giftmenge 0,1 und 0,25 ccm Meerschweinchenserum 161,6 erhalten hatten.

Nach dieser Auswertung wurde mit dem Serum I der schönste der bisher gelungenen Versuche über die Geltung des Vielfachengesetzes angestellt.

Die Tiere 513, 514 und 515 erhielten mit je 0,1 ccm Schafserum I die Mengen von 0,4, 0,8 und 1,2 ccm Gift XXIII intrap. 513 blieb munter, 514 und 515 starben nach 12–18 Stunden. No. 516, 517, 518 erhielten dieselben Giftmengen mit je 0,2 ccm Schafserum I intrap.; 516 blieb munter, ebenso 517, das aber am nächsten Tage einen Anusprolaps zeigte, dem es später erlag, 518 starb nach 12–18 Stunden. No. 519, 520 und 521 mit den gleichen Giftmengen und 0,4 ccm Schafserum I blieben sämtlich ohne Krankheit, No. 522 mit 0,4 ccm Gift und 0,4 ccm Normalschafserum wurde schwerkrank, lebte aber etwa 30 Stunden.

An der Gültigkeit des Vielfachengesetzes ist nach solchen Versuchen ein Zweifel nicht mehr möglich; dabei muß überdies hervorgehoben werden, daß in diesem Falle auch normales Schafserum (ähnlich wie wahrscheinlich Normalpferdeserum) einen, wenn auch nur geringen, natürlichen Antitoxin-gehalt besitzt.

Die Heilkraft des Serums gegen Gift war äußerst gering, indem schon nach etwa 10 Minuten die tödliche Vergiftung nicht sicher verhindert werden konnte.

Die antihämolytische Wirkung zeigt der folgende Versuch.

Der Versuch wurde in der Weise hergestellt, daß zuerst verschiedene Mengen von Schafserum I bzw. Normalschafserum jedesmal in 0,5 ccm Gesamtflüssigkeit mit 1 ccm 5-proz. Schafblutes gemischt wurden und nach etwa $\frac{1}{4}$ Stunde der Zusatz des Giftes erfolgte; bei dem Zeichen: + + +, welches die vollständige Lösung anzeigt, befindet sich ein Index (z. B. $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$), welcher die Zeit bedeutet, innerhalb welcher die vollständige Lösung eingetreten war. Wo dieses Zeichen fehlt, ist das erzielte Lösungsergebnis nach 2-stündigem Aufenthalte bei 37° verzeichnet.

Vom Gifte XXIII:		0,005 ccm	0,01 ccm	0,05 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm
0,1 ccm	Schafserum I	—	—	—	0	0
0,075	" "	—	—	—	0	0
0,05	" "	—	—	0	0	Sp?
0,025	" "	—	—	0	0 1	+ + + $\frac{3}{4}$ (+1, + + $\frac{1}{4}$)
0,01	" "	0	0	Sp	+ + +	+ + +
0,0075	" "	0	0	+	+ + + 1	+ + + $\frac{3}{4}$
0,005	" "	0	0	+ + +	+ + + $\frac{1}{8}$	+ + + $\frac{1}{2}$
0,0025	" "	0	0	+ + + 1	+ + + $\frac{3}{4}$	+ + + $\frac{1}{2}$
0,001	" "	Sp	+ +	+ + + $\frac{3}{4}$	+ + + $\frac{1}{2}$	+ + + $\frac{1}{2}$
0,00075	" "	+	f. + + +	+ + + $\frac{3}{4}$	+ + + $\frac{1}{2}$	—
0,0005	" "	+ +	+ + +	+ + + $\frac{3}{4}$	+ + + $\frac{1}{2}$	—
0,00025	" "	f. + + +	+ + +	+ + + $\frac{3}{4}$	+ + + $\frac{1}{2}$	—
0,5	" Normalschafserum	0	0	f. + + +	+ + + $\frac{5}{4}$	+ + + 1
0,25	" "	0	+	+ + +	+ + + 1	+ + + 1
0,1	" "	Sp	f. + + +	+ + + 1	+ + + 1	+ + + $\frac{3}{4}$
0,5	" NaCl-Lösung	+ + +	+ + + $\frac{5}{4}$	+ + + $\frac{3}{4}$	+ + + $\frac{1}{2}$	+ + + $\frac{1}{2}$

Die vollkommene Geltung des Vielfachengesetzes für die Antihämolyse ist ebenso klar zu erkennen, wie die namentlich gegen geringe Giftmengen deutlich hervortretende antihämolytische Wirkung des Normalschafserums.

Was die sonstigen Eigenschaften des Schafserums I betrifft, so war die Agglutinationswirkung eine gute, indem mit 0,0005 ccm noch vollständige Klärung von 1 ccm Vibrionenaufschwemmung innerhalb 2 Stunden bei 37° eintrat; bei 0,00005 ccm war noch spurenweise Zusammenballung merklich. Hingegen war die sichtbare Präzipitationskraft gering, da 0,1 ccm Serum mit 0,25 ccm Gift XXIII erst nach längerer Zeit geringe Trübung und Satzbildung aufwies, während mit 0,1 ccm Gift kaum mehr sichtbare Reaktion eintrat.

Aehnlich wie das zuerst entnommene Serum verhielt sich Serum II, welches die Meerschweinchen 550 und 551 mit 0,1 und 0,25 ccm gegen 0,5 ccm Gift XXIV (etwa 3-fach töd-

lich) vollkommen schützte, während Kontrolltier 552 nach 10 Stunden starb. Sehr günstig erwies sich ferner die Wirkung des Serums bei Einspritzung von Gift unter die Haut, indem die Tiere 555 und 556, welche eine ganz frische Mischung von Gift XXIV (0,5 ccm) mit 0,1 und 0,25 ccm Serum II erhielten, außer ganz vorübergehender, nach 2 Tagen verschwundener Verhärtung, ohne Erscheinungen blieben, während No. 557 mit ebensoviel Gift und 0,25 ccm Normalschafserum eine über die ganze Bauchhaut verbreitete Infiltration mit Nekrose und großer Geschwürsbildung zeigte. Ebenfalls deutlich, wenn auch nicht so scharf, trat die schützende Wirkung einer vorhergehenden intraperitonealen Serumeinspritzung gegen eine nachfolgende subkutane Vergiftung hervor.

Die Tiere 558 und 559 erhielten 0,25 und 1 ccm Schafserum II intrap. und nach 10 Stunden je 0,5 ccm Gift XXIV unter die Haut, ebenso wie das unvorbehandelte Tier 560. Erstere zeigten am nächsten Tage ziemlich ohne Unterschiede Schwellungen, die vom übernächsten Tage zurückgingen, ohne zu Nekrosen zu führen, welche beim Kontrolltier in starker Geschwürsbildung zum Vorschein kamen, nachdem auch das Anfangsinfiltrat viel ausgedehnter gewesen war.

Es wurde nunmehr auch der Wirkung des Immunserums gegen lebende Vibrionen einige Aufmerksamkeit geschenkt. Wie bereits gelegentlich bemerkt wurde, war der Stamm Kadikjöji zur Zeit, wo Bacillenauszüge ein so wirksames Gift enthielten, nur wenig infektiös. Mengen von $\frac{1}{7}$ — $\frac{1}{4}$ Kultur töteten zwar regelmäßig bei Einspritzung in die Bauchhöhle innerhalb weniger Stunden, eine mikroskopisch sichtbare Vermehrung der Vibrionen, die im Exsudate öfters nur durch Züchtung nachweisbar waren, trat aber nicht ein. Allerdings ließ sich die Infektiosität bei Tierdurchgängen sehr leicht steigern.

Von einer Kultur nach einem solchen Durchgange erhielt No. 564 $\frac{1}{8}$ und starb nach etwa 7 Stunden, mit 3 ccm fast klaren Exsudates, fast ohne Zellen mit sehr spärlichen schlanken Vibrionen, die kein Merkmal des bei infektiösen Vibrionen an der Dickenzunahme so leicht erkennbaren „Tierischwerdens“ aufwiesen. Die Tiere 561 und 562, welche ebensoviel Vibrionen mit 0,001 und 0,01 ccm Schafserum II erhalten hatten, starben ungefähr gleichzeitig, ebenfalls mit spärlichen Vibrionen. No. 563 mit 0,1 ccm Serum wurde krank, lebte aber fast 48 Stunden und starb mit steriler, eitrigter Bauchhöhle.

Der Ausgang des Versuches ist nicht eben glänzend, zeigt aber doch, daß die Serummenge von 0,1 ccm, welche gegen ein geringes Vielfaches von gelöstem Gifte zu schützen vermag, auch gegen die giftigen Vibrionenleiber selbst erkennbaren Schutz verleiht. Geringere Mengen sind wirkungslos, ja selbst ihre Bakterizidie ist, wie der Nachweis lebender Vibrionen zeigte, ungenügend.

Heilwirkung wurde bei derartiger Versuchsanordnung nicht beobachtet, da Tiere, welche 1 Stunde nach der Einspritzung von $\frac{1}{6}$ Kultur 0,1 und 0,25 ccm Schafserum oder ebensoviel bakterizides Wiener Immunserum erhielten, sämtlich nach etwa 7 Stunden mit steriler Bauchhöhle starben.

Die Zunahme der Infektiosität erfolgte rasch. No. 574, welches $\frac{1}{6}$ Kultur der Vibrionen aus No. 564 erhalten hatte, starb nach 8 Stunden, das Exsudat war trüb, mit massenhaften Vibrionen, $\frac{1}{6}$ der daraus gewonnenen Kultur tötete No. 575 innerhalb 6–7 Stunden mit stärkster Vermehrung von Vibrionen, die bereits deutlich dicker als bisher aussahen. Die nunmehr gewonnene Zucht diente zum Versuche, bei dem No. 576 $\frac{1}{6}$ Kultur gleichzeitig mit 0,25 ccm Schafserum erhielt und keine Krankheitszeichen erkennen ließ. Das gleichstark infizierte Tier 577 erhielt dieselbe Serummenge erst nach $\frac{1}{2}$ Stunde, wurde krank, war aber schon am Abende erholt; auch 578, 1 Stunde nach der Infektion mit Serum in gleicher Menge behandelt, überlebte nach Krankheit. Das Kontrolltier 579 starb nach $7\frac{1}{2}$ Stunden mit stärkster Vibrionenvermehrung.

In diesem Versuche, bei dem eine an sich tödliche Vibrionenmenge angewendet wurde, die sich nach $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde noch vermehrt haben mußte, tritt somit Schutz- wie Heilwirkung gegen das Gift der Vibrionenleiber deutlich hervor. Ähnliches wurde auch bei dem Serum III, welches von dem bereits stark herabgekommenen immunisierten Schafe gewonnen war, festgestellt.

No. 585 erhielt $\frac{1}{6}$ Kultur lebend mit 0,1 ccm Serum III und blieb ohne merkbare Krankheit, No. 586 mit ebensoviel Wiener Immunserum wurde schwer krank, starb nach 3 Tagen mit steriler eitriger Bauchhöhle, No. 587 mit ebensoviel Normalserum wurde schwer krank, überlebte aber nach langem Siechtum. No. 588 erhielt 1 Stunde nach der Infektion 0,1 ccm Serum III, wurde schwer krank und starb nach 25 Stunden mit zellreicher Bauchhöhle, in der sehr spärlich, aber schon mikroskopisch Vibrionen zu finden waren; 589, welches nach 1 Stunde 0,25 ccm Serum III erhielt, überlebte nach schwerer Krankheit, während 590 und 591, die nach 1 Stunde je 0,25 ccm Wiener Immunserum und Normalschafserum er-

hielten, nach 7 und 8 Stunden starben und im Exsudat fast keine Zellen, keine Vibrionen und Granula enthielten.

Bei gleichzeitiger Einspritzung schützte somit gegen eine verhältnismäßig kleine Vibrionenmenge sowohl Immun- als Normalschafserum und Wiener Immunserum, dieses am schlechtesten. Man wird dafür die bakterizide Fähigkeit dieser Seren verantwortlich zu machen haben, die allein ausreichte, da eine tödliche Giftmenge in $\frac{1}{25}$ Kultur von Vibrionen nicht enthalten war. Diese Giftmenge und möglicherweise ein Vielfaches davon war aber 1 Stunde später in der Bauchhöhle der Versuchstiere vorhanden, und jetzt hatte nur noch das antitoxische Schafserum in der Menge von 0,25 ccm Erfolg. Daraus geht einerseits die Tatsache der Möglichkeit eines Giftschutzes auch gegen die im Tierkörper selbst herangewachsenen Vibrionenleiber hervor, andererseits die Möglichkeit der Gewinnung von Heilseren gegen Cholera, wobei ohne weiteres zugestanden werden muß, daß sie noch in hohem Grade verbesserungsbedürftig sein mögen. Gegen gelöstes Gift wurden mit Serum III sehr günstige Erfolge erzielt.

Zum Versuche diente Gift XXV, von dem wahrscheinlich weniger als 0,1 ccm tödlich ist, da ein mit dieser Menge intraperitoneal vergiftetes Tier schon in weniger als 8 Stunden starb. 0,05 und 0,1 ccm Serum III schützte die Tiere 592 und 593 gegen 0,3 ccm davon ohne besondere Krankheit, wobei aber sonderbarerweise 593 eher beeinflußt war als 592, und No. 594, welches die gleiche Giftmenge mit 0,25 ccm Serum III erhielt, schon bald nach der Einspritzung der Mischung schwere Krankheit zeigte und nach 7 Stunden starb, früher als das ohne Serum gelassene Kontrolltier und 3 Tiere, welche die gleichen Mengen Gift mit 0,05, 0,1 und 0,25 ccm Wiener Immunserum erhalten hatten und innerhalb 10 bis 17 Stunden erlagen.

Es war dies der auffallendste Befund des bereits mehrfach hervorgehobenen „paradoxen Verhaltens“ des antitoxischen Serums; 0,05 ccm hatten vollkommen, 0,1 ccm etwas weniger geschützt, 0,25 ccm, also die 5-fach schützende Menge, hatte nicht nur in keiner Weise geschützt, sondern eher die Vergiftung beschleunigt. Für eine Erklärung reichen die Erfahrungen nicht aus. Man kann nur darauf hinweisen, daß ähnliche Erscheinungen, vorwiegend von Reagenzglas-, aber auch von Tierversuchen her, bereits für jede Seite von Immunserumwirkung (agglutinierende, präzipitierende, bakterizide)

bekannt sind. Von Pfeiffer und Bessau sind vergleichbare Ergebnisse bei Untersuchung eines gegen Typhus antitoxischen Serums von Besredka erhalten worden. Entsprechend ihrer bemerkenswerten Deutung, daß Endotoxin-entgiftung durch eine sozusagen erweiterte Bakteriolyse infolge fermentativen Abbaues der Bakterienleiber erfolge, ordnet sich für sie die Erscheinung unmittelbar der Reihe der durch sogenannte Komplementablenkung bedingten Besonderheiten ein. Möglicherweise liegen aber die Verhältnisse ähnlich wie nach einer Angabe von Markl (zit. nach Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., Bd. 42, Beiheft p. 21), wo Serum von gegen Pest-endotoxin immunisierten Tieren in der Menge von 0,2 ccm antitoxisch wirkte, in der von 0,5 ccm nicht nur nicht schützte, sondern sogar selbst vergiftete. Es müßte in einem solchen Falle bei lange behandelten Immuntieren zeitweise Gift und Gegengift nebeneinander vorhanden sein und das erstere nur langsam beseitigt werden. Für etwas derartiges scheint die Tatsache zu sprechen, daß eine Wiederholung des so auffallenden Versuches mit den Tieren 592—594 schon am nächsten Tage nur noch teilweise gelang.

No. 598 erhielt 0,3 ccm Gift XXV mit 0,01 ccm Serum III intrap., wurde sehr deutlich krank, überlebte; 599 erhielt ebensoviel Gift mit 0,075 ccm Serum III, blieb ohne jedes Zeichen; 600 und 601 mit 0,3 ccm Gift und 0,25 und 0,5 ccm Serum III wurden beide schwerst krank, erholten sich aber wieder; 602 ohne Serum starb innerhalb 8 Stunden.

Das paradoxe Verhalten des Serums trat somit hier nur mehr in bezug auf das Auftreten von Krankheit hervor, während die Erholung und das Ueberleben nach der Verwendung einer wenigstens 3-fachen Giftmenge nur die Schutzwirkung des Serums anzeigt. Bis auf weiteres kann also das merkwürdige Verhalten größerer Mengen antitoxischen Serums nur verzeichnet werden.

In bezug auf Agglutinations- und Präzipitationswirkung war Serum III recht geringwertig, hatte gegen die früheren Seren sogar an Wirkung verloren. Vollständige, dabei aber auffallend langsame Agglutination trat bei 0,05 ccm auf 1 ccm Aufschwemmung ein, unvollständige bis spurenweise bei geringeren Mengen bis zu 0,005 ccm herab. Präzipitation mit Gift XXV war nur bei Zusatz von 0,2 ccm zu 0,5 ccm Gift

8*

wahrnehmbar, und zwar ebenfalls erst nach längerer Zeit. Das spricht für Unabhängigkeit der antitoxischen von allen sonstigen Wirkungen des Serums.

Bei einem Ueberblick der mitgeteilten Versuche kann es nicht zweifelhaft sein, daß die Herstellung einer Immunität gegen giftige Zellauszüge des *Vibrio Kadikjöji* vollkommen erreichbar ist und daß diese alle Kennzeichen einer echt antitoxischen an sich trägt. Das Serum hochimmuner Tiere wirkt gegen solche Gifte sicher und gehorcht dem Gesetze des Vielfachen, erfüllt also alle Forderungen, die man bisher an echte Antitoxine gestellt hat.

Bis vor wenigen Jahren war man geneigt, derartige Auszüge giftiger Bakterien ohne weiteres als Endotoxinlösungen zu bezeichnen und als das Gesamtgift der Bakterien anzusehen, und damit wäre die Tatsache des Bestehens von wirklichen Antiendotoxinen, um deren Herstellung sich bereits, von älteren Forschern, wie Ransom, Metschnikoff, Roux, Taurelli-Salimbeni, abgesehen, MacFadyan, Hahn, Besredka, Salimbeni u. a. verdient gemacht haben, neuerdings sichergestellt. Seit den großen Untersuchungen von R. Kraus und seiner Schule an choleraähnlichen Vibrionen, an El Tor-Vibrionen, echter Cholera und Typhus, welche das Vorhandensein löslicher, in flüssige Kulturen übergehender Gifte zum Gegenstande hatten, und der daraus entwickelten Erörterung mit Pfeiffer und den Anhängern der reinen Endotoxinlehre überhaupt liegen aber die Verhältnisse weit mehr verwickelt. Es hat sich herausgestellt, daß es Vibrionen (echte Cholera und choleraähnliche) gibt, welche, an sich stark giftig, auch in Flüssigkeiten gezüchtet, Gifte ausscheiden, die teils besondere, teils die für Halbparasiten bezeichnenden Krankheitserscheinungen hervorrufen und zur Bildung echter Antitoxine Veranlassung geben; auch für Typhusbacillen gilt ähnliches, und es ist nicht mehr zweifelhaft, daß man mit derartigen Bakterienauszügen immunisieren und wirksame Seren gewinnen kann. Das bestätigten auch R. Pfeiffer und seine Schule, wenden sich aber dagegen, daß diese Immunität eine wirklich antiendotoxische sei. Das Gift solcher Bakterienauszüge oder auch älterer Bouillonkulturen sei nicht einfach, sondern zusammengesetzt, enthalte echte Toxine oder

diesen sehr nahestehende Stoffe, welche Antitoxine bilden, und überdies wahre Endotoxine, die dazu nicht imstande sind. Pfeiffer leugnet durchaus nicht die Möglichkeit, daß es echte Antiendotoxine geben könne, bestreitet aber, daß solche bisher dargestellt worden seien; die von ihm untersuchten Sera, insbesondere das gegen El Tor-Vibrionen gerichtete von Kraus, sowie das Besredkasche gegen Typhus können jedenfalls als solche nicht gelten. Der Beweis dafür liege hauptsächlich darin, daß sie nicht imstande seien, gegen die Bakterienleiber selbst eine höhere Wirksamkeit zu entfalten; das aber müsse ein antiendotoxisches Serum leisten, und zwar nach ähnlichen Verhältnissen, wie echte Antitoxine die zugehörigen Toxine entgiften, wofür wieder insbesondere die Geltung des Vielfachengesetzes nachgewiesen werden müsse. Pfeiffer und Bessau machten dabei mit Nachdruck darauf aufmerksam, daß auch bakterizide Seren durchaus nicht ohne Einfluß auf giftige Bakterienleiber sein müssen und entwickelten, die bereits hervorgehobene Anschauung, nach welcher sie durch einen fermentativen Abbau der Leibesstoffe von Bakterien giftwidrig werden könnten.

Wie immer man sich zu den Anschauungen R. Pfeiffers stellen mag, es ist doch nicht zu verkennen, daß der einstige scharfe Gegensatz zwischen der Betonung der Toxin- und der Endotoxinwirkung der Halbparasiten in hohem Grade abgeschwächt worden ist. Mit der veränderten Betrachtungsweise ist aber auch die Notwendigkeit einer neuartigen Bearbeitung der ganzen Giftfrage bei Halbparasiten, besonders der Cholera, gegeben; außer den bereits angeführten Untersuchungen ist hier besonders die Arbeit von Salimbeni zu nennen, welche unmittelbar den Nachweis von zwei Giften des Choleravibrio oder auch verschiedene Ausbildungs- oder Veränderungsstufen eines Giftes in alt werdenden Flüssigkeitszuchten zu führen suchte.

Von diesem Standpunkte aus beurteilt, stellen die mitgeteilten Versuche erst eine Vorarbeit dar; sie zeigen, daß gegen Gift, welches sich mit Wasser aus Vibrionenleibern ausziehen läßt, verhältnismäßig leicht, durch Vorbehandlung mit durch Leukocyten abgeschwächten Lösungen, ein echtes Antitoxin zu gewinnen ist, das dem Vielfachengesetze gehorcht.

Das bedeutet eine Bestätigung der bereits angeführten älteren Arbeiten in vollem Umfange; inwiefern die von Hahn und Carrière und Tomarkin hergestellten Seren, welche eine Geltung des Vielfachengesetzes nicht erkennen ließen, sich von den hier untersuchten Seren unterscheiden, muß unentschieden bleiben.

Ob der hier verwendete Stamm Kadikjöji als echter Choleravibrio zu bezeichnen ist, darauf kommt wenig an, da es sich wesentlich nur um theoretische Ermittlungen handelt, die wahrscheinlich für alle sogenannten endotoxischen Bakterien mehr oder weniger Geltung haben. Der Stamm wurde von Herrn Kollegen Pribram in Wien liebenswürdig überlassen. Einen brieflichen Hinweis darauf, daß der Stamm wegen seiner Giftigkeit, seiner starken Hämolysinbildung und auch in bezug auf Agglutination mehr dem El Tor-Typus entspreche, beantwortete Herr Kollege Pribram in dankenswerter Weise durch einen Hinweis auf die bisherige Verwendung desselben in den Arbeiten von Löwy¹⁾ und Fügner²⁾. Im Sinne der Anschauungen von Kraus dürfte danach der Stamm als zur El Tor-Gruppe gehörig angesehen werden müssen.

Einerseits mit Rücksicht auf den Nachweis wirklicher Antiendotoxine, andererseits im Hinblick auf praktische Serumverwendung beim Menschen hat Pfeiffer verlangt, daß ein als antiendotoxisch hingestelltes Serum seine schützende und heilende Wirkung auch gegenüber der Vergiftung durch geformte, lebende oder tote Vibrionensubstanz erweisen müsse, eine Forderung, der ohne Rücksicht auf theoretische Anschauungen zugestimmt werden muß. Außer den bereits mitgeteilten Versuchen wurde dieser Frage nochmals mit besonderer Berücksichtigung des Vielfachengesetzes einige Aufmerksamkeit zugewendet.

Die Infektiosität des Stammes war zu dieser Zeit außerordentlich gestiegen, mit etwa $\frac{1}{60}$ Oese starben Meerschweinchen von 200 g innerhalb 12 Stunden, die untere Grenze der Wirksamkeit wurde nicht genau bestimmt.

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 75, p. 319.

2) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 74, p. 354.

Die Tiere 623, 624, 625 und 626 erhielten je $\frac{1}{10}$ Kultur lebender, etwa 15-stündiger Vibrionen mit 0,1 und 0,3 ccm Schafserum III unter Zusatz von je 0,004 ccm bakteriziden Wiener Immunserums und 0,104 und 0,304 ccm des Wiener Immunserums. Alle überlebten ohne besondere Krankheit. No. 627 und 628 erhielten je $\frac{1}{5}$ Kultur mit 0,1 und 0,3 ccm Schafserum III und je 0,004 ccm Wiener Immunserums und überlebten ohne besondere Krankheit.

No. 629 mit $\frac{1}{5}$ Kultur und 0,104 ccm Wiener Immunserums wurde schwerst krank und blieb lange sehr elend; No. 630 mit 0,304 ccm des gleichen Serums starb nach 11–19 Stunden ohne Vibrionen in der ziemlich zellreichen Bauchhöhle. Das Kontrolltier 631, welches $\frac{1}{10}$ Kultur nur mit 0,004 ccm Wiener Serums erhalten hatte, blieb am Leben; No. 632 mit $\frac{1}{5}$ Kultur und der gleichen Menge Wiener Serums starb nach 9 Stunden ohne Vibrionenbefund im Exsudate.

Der Versuch ist ganz klar: Trotz der gewaltig gesteigerten Infektiosität ist die Giftigkeit des Stammes ungefähr gleich wie früher geblieben. $\frac{1}{10}$ Kultur reichte noch nicht hin, um ein kleines Meerschweinchen zu töten, wenn die Vibrionenvermehrung durch kleine Mengen von Bakteriolytinen verhindert wurde; hingegen enthielt $\frac{1}{5}$ Kultur gerade die dafür hinreichende Giftmenge, welche durch Schafserum III sehr wirksam, durch Wiener bakterizides Immunserum nur sehr unvollkommen entgiftet wurde; dabei tritt wieder die Erscheinung hervor, daß das Tier mit der kleineren Serummenge besser als das mit der größeren davonkam.

Zu dem folgenden Versuche wurden je 4 Tiere in 3 Abteilungen verwendet, die $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{6}$, $\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{8}$ Kultur lebender Vibrionen mit je 0,01 ccm bakteriziden Wiener Immunserums erhielten. Von der einen Abteilung, wo außerdem kein anderes Serum gegeben wurde, starben alle Tiere innerhalb 10–14 Stunden mit steriler Bauchhöhle, außer No. 642 mit $\frac{1}{6}$ Kultur, welches sich erholte. Es stellt somit tatsächlich $\frac{1}{6}$ Kultur die Menge Vibrionen mit der gerade tödlichen Giftmenge dar. Von den Tieren der zweiten Abteilung, welche überdies je 0,25 ccm Wiener Immunserum (unmittelbar vor der Einspritzung den Vibrionen zugesetzt) erhielten, starben die mit $\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{6}$ Kultur nach 32 und weniger als 20 Stunden, die anderen beiden wurden krank, erholten sich etwas, starben aber dann nach 1 bis $1\frac{1}{2}$ Wochen marastisch. Die Tiere der dritten Abteilung mit je 0,25 ccm Schafserum III überlebten ohne Krankheit, mit Ausnahme desjenigen, welches $\frac{1}{8}$ Kultur erhalten hatte und das in der Versuchsnacht mit steriler Bauchhöhle starb.

Eine gewisse, geringe giftwidrige Wirkung besitzt somit das Wiener bakterizide (mit echten Choleravibrionen her-

gestellte) Pferdeserum, sie ist aber nicht zu vergleichen mit der des antitoxischen Schafserums, das außer gegen $\frac{1}{5}$ auch noch gegen $\frac{1}{4}$ Kultur zu schützen vermag. Darüber hinaus versagt es.

Die Wiederholung des Versuches in der Absicht, die Geltung des Vielfachengesetzes auch für den Serumschutz durch Vibrionen nachzuweisen, lieferte aber sehr wenig befriedigende Ergebnisse.

Zunächst ergab eine genauere Auswertung des Schafserums III, daß die Mengen von 0,05, 0,1 und 0,2 ccm davon gegen $\frac{1}{4}$ Kultur nicht zu schützen vermochten und daß gegen $\frac{1}{5}$ Kultur auch 0,5 ccm unwirksam waren. Bei einem weiteren Versuche war No. 654 gegen $\frac{1}{4}$ Kultur durch 0,25 ccm Serum III, also eine früher wirksame Menge, nicht zu schützen, wohl aber kam No. 655 mit 0,5 ccm nach starkem Temperaturabfall (bis 32,2°) und Krankheit davon; gegen $\frac{1}{5}$ Kultur wurde mit 0,5, 0,75 und 1 ccm Serum III nur insofern eine Wirkung erzielt, als das mit der größten Serummenge behandelte Tier 658 24 Stunden lang (gegenüber einer Lebensdauer von 6—10 Stunden bei den übrigen Tieren) überlebte, wobei aber der Temperatursturz nach 4 Stunden stark betont war. Gegen $\frac{1}{5}$ Kultur zeigte selbst 1 ccm Schafserum III keine Spur einer Beeinflussung.

Es läßt sich somit bisher nur aussagen, daß zwar das antitoxische Serum sicher eine gewisse Schutzkraft auch gegen lebende, aber nicht zur Vermehrung kommende Vibrionen besitzt, daß diese aber nur ganz gering ist. Innerhalb dieser beschränkten Schutzwirkung lassen sich auch Spuren der Geltung des Vielfachengesetzes nachweisen. Im ganzen aber bestätigt dieser Teil der Untersuchungen die Ermittlungen Pfeiffers und seiner Schüler, wonach die gegen Halbparasiten als antitoxisch hergestellten Seren, deren Giftschutz durch den ersten Teil dieser Versuche neuerlich bekräftigt erscheint, in bezug auf ihre Wirkung gegen lebende Vibrionen sehr viel zu wünschen übrig lassen. Hängt von dieser ihre Verwendung zu Heilzwecken ab, so ist wenig Hoffnung für eine antitoxische Cholerabehandlung gegeben.

In diesem Zusammenhange sei erwähnt, daß weitere Versuche sichergestellt haben, daß die giftwidrige Wirkung des Serums III nicht vernichtet wird, ja nicht einmal eine nachweisbare Abschwächung erfährt, wenn man dasselbe vorher

mit sehr großen Mengen lebender Vibrionen behandelt ¹⁾. Das deutet darauf hin, daß die mittels Vibrionenauszügen gewonnenen Antitoxine im Körper der Bakterien gar nichts finden, zu dem sie eine unmittelbare Beziehung hätten. Und doch lassen sich aus solchen Vibrionen durch einfaches Ausziehen mit Wasser Gifte darstellen, die ganz auf diese Antitoxine eingestellt sind! Angesichts solcher Tatsachen erübrigt nur der Schluß, daß für die Antitoxinforschung bei Halbparasiten noch die allernotdürftigste Grundlage, die Kenntnis der Gifte, fehlt. Eine genaue Analyse der Giftbildung muß zuerst angestrebt werden.

Zusammenfassung.

Bei einem giftigen Cholerastamme, dem *Vibrio Kadikjöji*, läßt sich zeigen, daß es verhältnismäßig leicht gelingt, gegen giftige Auszüge der Vibrionenleiber Seren herzustellen, welche in jeder Hinsicht, namentlich mit Rücksicht auf die Geltung des Vielfachengesetzes antitoxischen Seren entsprechen. Dieselben wirken auch antihämolytisch. Gegenüber der Vergiftung durch lebende Vibrionen ist ihr Wert zwar ebenfalls nachweisbar, aber gering, die Geltung des Gesetzes vom Vielfachen ist deshalb nur angedeutet zu erkennen. Die darin enthaltenen Antitoxine werden durch Behandlung mit lebenden Vibrionen nicht merkbar geschädigt.

1) Nachsatz bei der Korrektur: Wie spätere Versuche ergeben haben, müssen zur Bindung des Giftschatzes ganz ungeheure Mengen von Bakterien verwendet werden. Die diesbezüglichen Versuche werden demnächst in dieser Zeitschrift veröffentlicht.

Nachdruck verboten.

[Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitales in Wien.]

Ueber die Antigeneigenschaften von methyliertem Eiweiß.

VII. Mitteilung über Antigene.

Ausgeführt mit Unterstützung der Fürstlich Liechtensteinschen Spende.

Von **Karl Landsteiner.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Juli 1916.)

Im folgenden werden die Ergebnisse einer serologischen Prüfung von methyliertem Eiweiß mitgeteilt, die in ähnlicher Weise vorgenommen wurde, wie früher die Untersuchung von Acetyleiweiß¹⁾.

Versuche einer Methylierung von Proteinen stellten Skraup, Krause und Böttcher²⁾ an. Sie erhielten, von Gelatine und Kasein ausgehend, methylierte Substanzen, doch führt ihr Verfahren — Einwirkung von Jodmethyl in warmer alkalischer Lösung — ohne Zweifel zu Zersetzungen und auch zum Eintritt von Jod. Rogozinski³⁾ untersuchte die Spaltprodukte von mit Dimethylsulfat und Alkali bei gewöhnlicher Temperatur behandeltem Clupeinsulfat und fand einen beträchtlich geringeren Gehalt an Argininstickstoff als bei der Spaltung von unverändertem Clupeinsulfat.

Wie ich fand⁴⁾, ist eine Methylierung von Eiweiß leicht bei gewöhnlicher Temperatur und unter Bedingungen zu erzielen, die eine Zersetzung ausschließen. Die Methode besteht in der Einwirkung von Diazomethan (CH_2N_2) auf Eiweiß in ätherischer (etwas Methylalkohol enthaltender) Suspension. In dieser Weise aus Serumeiweiß, Kasein, Edestin, Gelatine, Seide, Protamin dargestellte Substanzen wurden von Herzig und mir⁵⁾ nach den Methoden von Zeisel und Herzig-Meyer untersucht und ergaben einen beträchtlichen Gehalt

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 193.

2) Monatsh. f. Chem., Bd. 30, 1909, p. 447; Bd. 31, 1910, p. 1035.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 80, 1912, p. 371.

4) Biochem. Zeitschr., Bd. 58, 1913, p. 362.

5) Biochem. Zeitschr., Bd. 61, 1914, p. 458.

von an Sauerstoff und an Stickstoff gebundenem Methyl, z. B. (unter Berücksichtigung von Kontrollbestimmungen) bei Eiweiß aus Pferdeserum nach zweimaliger Behandlung mit Diazomethan fast 4 Proz. OCH_3 und mehr als 3 Proz. an N gebundenes CH_3 .

Zur Herstellung¹⁾ des hier verwendeten Methyleiweißes wurden 100 ccm Pferdeserum mit Alkohol gefällt²⁾, mit absolutem Alkohol und trockenem Aether gewaschen und ätherfeucht in eine aus 40 ccm Nitrosomethylurethan hergestellte Lösung von Diazomethan eingetragen, gut verteilt und zur Entfernung gröberer Partikel durch Gaze filtriert. Nach 10–14-tägigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde abfiltriert, die Substanz auf dem Filter oder der Zentrifuge mit Alkohol und Wasser gewaschen und für die Verwendung zur Immunisierung und den serologischen Reaktionen durch Aufschwemmen in 1-proz. NaCl-Lösung auf das ursprüngliche Volumen (des Serums) gebracht. (Zur Aufbewahrung Zusatz von 0,5 Proz. Phenol.)

Ueber die Herstellung des Diazomethans aus Nitrosomethylurethan (10 ccm Nitrosomethylurethan + 60–70 ccm trockener Aether + 10 ccm 25-proz. methylalkoholische Lösung von KOH) s. H. Meyer³⁾. (Vorsicht wegen der Giftigkeit, Vorlegen mehrerer Waschflaschen mit Aether zum Auffangen etwa entweichenden Gases.)

Das methylierte Produkt läßt sich in Kochsalzlösung fein verteilen, feiner als das ursprüngliche mit Alkohol gefällte Eiweiß, die Suspension ist rein weiß, reagiert schwach alkalisch. Wie bei dem acetylierten Serumeiweiß sind Biuret-, Xanthoproteinreaktion, die Reaktion mit salpetriger Säure, alkalischer Bleilösung, mit Dimethylamidobenzaldehyd, Diazobenzolsulfonsäure, Reaktion nach Molisch positiv. Die Ninhydrinreaktion ist, wie schon mitgeteilt wurde, abgeschwächt, die Millonsche Reaktion gibt nur eine rötlichgelbe oder bräunliche Farbe. Von Lauge, z. B. $\frac{1}{10}$ n Natronlauge, wird der Methylkörper weniger leicht gelöst als mit Alkohol gefälltes Serumeiweiß.

Zur Immunisierung wurden 5 Kaninchen je 10 ccm Serum entsprechende Mengen der Emulsion viermal in Abständen von etwa 10 Tagen intraperitoneal injiziert. Alle Tiere lieferten im Komplementbindungsversuche gut wirksame Seren (Abnahme 8–10 Tage nach der letzten Injektion).

1) Vgl. l. c. Biochem. Zeitschr., Bd. 58.

2) S. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, 1913, p. 211.

3) Analyse und Konstitutionsermittlung etc. Berlin (Springer) 1909.

Technik der Komplementbindungsreaktion und Bezeichnung der Reaktionsergebnisse wie in der vorhergehenden Versuchsreihe¹⁾. Vom Lysin wurde wie bei diesen Versuchen, wo nichts anderes erwähnt ist, immer die (in der Versuchszeit) doppelte lösende Dosis oder etwas mehr genommen.

Die gewonnenen Immunsereen zeigten eine ausgesprochene Strukturspezifität, ähnlich wie die früher untersuchten Antikörper gegen Acetyleiweiß. Der Umstand, daß die Seren auf das homologe Antigen nur bei mäßig starken Verdünnungen desselben wirken, ist, wie schon früher erwähnt wurde, offenbar darauf zu beziehen, daß das Antigen als Suspension und nicht in Lösung verwendet wird, und dasselbe Verhalten zeigt sich bei allen in dieser Form benützten Antigenen. Es ist anzunehmen, daß, abgesehen von vielleicht (kolloid) gelösten Anteilen des Körpers, eine Reaktion nur an der Oberfläche der suspendierten Partikel erfolgt, ein großer Teil der Substanz also unwirksam bleibt.

Antigene²⁾ aus Pferdeserum hergestellt, 2 Kapillartropfen Immunsereum. Ablesung nach 2 Stunden 37°. (Außer den Immunsereen gegen Methyleiweiß wurde mit jedem Antigen ein homologes Immunsereum zur Kontrolle in Reaktion gebracht.) Die Verdünnungszahlen beziehen sich auf das ursprüngliche Serumvolumen. Das Methylantigen enthielt 0,0553 organische Substanz in 1 cem.

Immunsereen gegen	Methyleiweiß	Methyleiweiß	Natives Eiweiß	Coctoeiweiß	Durch HCl gefälltes Eiweiß	Diazoeiweiß (Rind)	Alkoholeiweiß	Eiweißester ³⁾	Acetyleiweiß	Kochsalzlösung
Nummer der Immunsereen	482	488	50	83	85	53	2	379	449	
Natives Eiweiß $\frac{1}{100}$	k.	k.	0	k.
" " $\frac{1}{500}$	k.	k.	0
" " $\frac{1}{2500}$	k.	k.	0
Coctoeiweiß $\frac{1}{100}$	k.	k.	.	0	k.
" " $\frac{1}{500}$	k.	k.	.	0
" " $\frac{1}{2500}$	k.	k.	.	0

1) l. c. VI. Mitteilung.

2) Bezüglich der Herstellung und Bezeichnung der Antigene siehe Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, p. 211; Bd. 21, p. 193.

3) Als Eiweißester bezeichne ich mit alkoholischen Säuren behandeltes Eiweiß, s. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, 1913, p. 211; Biochem. Zeitschr., Bd. 67, 1914, p. 334.

Immunseren gegen	Methyleiweiß	Methyleiweiß	Natives Eiweiß	Cocto-eiweiß	Durch HCl gefälltes Eiweiß	Diazo-eiweiß (Rind)	Alkoholeiweiß	Eiweißester	Acetyleiweiß	Kochsalzlösung
Nummer der Immunseren	482	488	50	83	85	53	2	379	449	
Durch HCl gefälltes Eiweiß $\frac{1}{100}$	k.	k.	.	.	0	k.
" " " " $\frac{1}{500}$	k.	k.	.	.	0
" " " " $\frac{1}{2500}$	k.	k.	.	.	0
Nitro-eiweiß $\frac{1}{100}$	k.	k.	.	.	.	0	.	.	.	k.
" " " " $\frac{1}{500}$	k.	k.	.	.	.	0
" " " " $\frac{1}{2500}$	k.	k.	.	.	.	0
Alkoholeiweiß $\frac{1}{100}$	k.	k.	0	.	.	k.
" " " " $\frac{1}{500}$	k.	k.	0	.	.	.
" " " " $\frac{1}{2500}$	k.	k.	s. st.	.	.	.
Eiweißester $\frac{1}{100}$	k.	k.	0	.	k.
" " " " $\frac{1}{500}$	k.	k.	0	.	.
" " " " $\frac{1}{2500}$	k.	k.	f. k.	.	.
Acetyleiweiß $\frac{1}{100}$	k.	k.	0	k.
" " " " $\frac{1}{500}$	k.	k.	m.	.
" " " " $\frac{1}{2500}$	k.	k.	k.	.
Methyleiweiß $\frac{1}{100}$	0	0	k.
" " " " $\frac{1}{500}$	Sp.	Sp.
" " " " $\frac{1}{2500}$	k.	k.
Kochsalzlösung 1-proz.	k.	k.	k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	k.	k.

Die hier sehr deutlich zu erkennende Strukturspezifität des Methyleiweißes ist auch bei der umgekehrten Versuchsanordnung nachweisbar, nämlich beim Zusammenbringen vom Methyleiweiß aus Pferdeserum mit verschiedenen Immunseren, die durch Injektion von verschiedenartig behandeltem Pferdeserumeiweiß hergestellt sind ¹⁾.

2 Kapillartropfen Immunserum, Ablesung nach 75 Minuten 37°. Die gute Wirksamkeit der Immunseren auf homologe Antigene wurde in Kontrollversuchen erprobt.

Immunseren gegen	Natives Eiweiß		Cocto-eiweiß		Durch HCl gefälltes Eiweiß	Diazo-eiweiß	Alkohol-eiweiß		Eiweißester
Nummer der Immunseren	417	50	83	43	85	53	1	2	94
Pferde-Methyleiweiß $\frac{1}{100}$	k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	schw.
Kochsalzlösung	k.	k. ²⁾	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

1) Nur Serum 53 wurde mit Diazo-Rindereiweiß bereitet.

2) Serumkontrolle hemmt anfangs stark.

Immunseren gegen	Eiweiß- ester		Acetyl- eiweiß	Methyleiweiß					Koch- salz- lösung
Nummer der Immunseren	361	379	442	449	475	477	482	488	
Pferde-Methyleiweiß $\frac{1}{100}$	0	0	k.	k.	0	0	0	0	k.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Diesen Ergebnissen zufolge reagiert das Pferde-Methyleiweiß nur mit dem strukturhomologen Antiserum mit Ausnahme der ebenfalls stark wirkenden, durch Injektion von verestertem Eiweiß gewonnenen Immunseren. Dabei tritt eine Erscheinung auf, die schon von anderen Autoren und auch in eigenen Versuchen¹⁾ beobachtet wurde und nicht selten zu sein scheint, nämlich ein areziprokes Verhalten eines Paares von Antigenen und Antikörpern. So ist die Reaktion des Methyleiweißes mit den erwähnten Immunseren sehr ausgesprochen, während die umgekehrte Reaktion — Methyleiweiß-Antiserum auf Eiweißester — nicht nachgewiesen werden konnte, auch nicht bei Anwendung einer einfachen Hämolyse. Es ist daraus wieder zu schließen, daß die bindenden und immunisierenden Funktionen eines Antigens häufig keinen vollen Parallelismus erkennen lassen. Ein völliges Fehlen der nicht nachweisbaren Reaktion kann allerdings nicht leicht behauptet werden, da die Erkennung nur bei einer gewissen Intensität möglich sein wird.

Eine quantitative Untersuchung ergab das folgende Resultat.

Pferde-Eiweißester, Pferde-Methyleiweiß und die entsprechenden Immunseren. 2 Kapillartropfen Immunserum, Ablesung nach 1 Stunde, 37°, Nacht Eiskasten.

Immunseren gegen				Eiweiß- ester				Methyleiweiß Kochsalzlösung				Immunseren gegen				Eiweiß- ester				Methyleiweiß Kochsalzlösung			
Nummer der Immunseren				361	379	482		Nummer der Immunseren				361	379	482									
Antigen	{	Methyleiweiß $\frac{1}{100}$	0	0	0	k.	Antigen	{	Eiweißester $\frac{1}{100}$	0	0	k.	k.										
		" $\frac{1}{200}$	0	0	0	.			" $\frac{1}{200}$	Sp.	Sp.	k.	.										
		" $\frac{1}{400}$	Sp.	Sp.	0	.			" $\frac{1}{400}$	k.	k.	k.	.										
		" $\frac{1}{800}$	f. k.	f. k.	0	.			" $\frac{1}{800}$	k.	k.	k.	.										
		" $\frac{1}{1600}$.	.	f. k.	.																	
Kochsalzlösung				k.	k.	k.	k.																

1) Z. B. gekreuzte Einwirkungen von Coctoeiweiß und mit HCl gefälltem Eiweiß und den zugehörigen Antikörpern (IV. Mitteilung p. 219).

Ganz ebenso verlief ein zweiter analoger Versuch. Auffallend ist hier, daß die Wirkung der Eiweißester-Antiseren auf das heterologe Antigen bei annähernd gleicher Konzentration eher stärker erscheint als auf das homologe. Dieses Verhältnis kehrt sich aber um, wenn man nicht — bei reichlichem Zusatz von Antiserum — die Antigene, sondern die Immunseren verdünnt, wie in dem folgenden Versuchsbeispiel. Auch ein solches Verhalten wurde schon früher mit B. Jablons bei der serologischen Prüfung von Acetyleiweiß verschiedener Tierarten beobachtet¹⁾, und wir verwiesen damals auf die Ergebnisse von Kudicke und Sachs. Ein weiteres Beispiel ist in der vorliegenden Mitteilung enthalten (s. u.).

Gleichzeitig mit dem vorhergehenden Versuch angestellt und mit diesem vergleichbar. Gleiche Substrate, Tropfengröße, Versuchsdauer.

	Immunserum gegen														
	Eiweißester No. 361					Eiweißester No. 379					Methyleiweiß No. 482				
Menge des Immunserums in Tropfen	2	1	1/2	1/4	1/8	2	1	1/2	1/4	1/8	2	1	1/2	1/4	1/8
Methyleiweiß 1/100	0	k.	k.	k.	k.	0	k.	k.	k.	k.	0	0	Sp.	schw.	k.
Eiweißester 1/100	0	0	schw.	k.	k.	0	0	m.	k.	k.	k.	k.	k.	.	k.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	.	.	.	k.

Die Tatsache der Mitreaktion der Ester-Antiseren auf Methyleiweiß ist vermutlich durch eine nahe chemische Verwandtschaft der beiden Antigene zu erklären, da bei der Einwirkung alkoholischer Säuren auf Eiweiß Alkylgruppen eintreten (s. u.). Andererseits ist aber daran zu erinnern, daß auch Antiseren gegen Acetyleiweiß mit Eiweißester eine, wenn auch nicht sehr intensive, Reaktion geben können²⁾.

Die Immunseren gegen Methyleiweiß wurden auch mit einem Präparat in Reaktion gebracht, das analog dem Methyl-derivat durch Behandlung von Eiweiß aus Pferdeserum mit Nitrosoäthylurethan hergestellt war, wobei die Entstehung eines äthylierten Eiweißes anzunehmen ist. Mit diesem Präparate reagierten die Immunseren sehr gut, aber in Versuchen mit absteigender Antigenkonzentration doch deutlich schwächer als mit dem Methylprodukt.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, p. 198.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914.

1 Kapillartropfen Immunserum gegen Methyleiweiß. Beide aus Pferdeserum hergestellte Antigene enthalten ungefähr 0,05 g organische Substanz in 1 ccm.

Antigene	Methyleiweiß					Aethyleiweiß					Kochsalzlösung
Antigenkonzentration 1:	100	200	400	800	1600	100	200	400	800	1600	
Immunserum No. 488	0	0	0	Sp.	k.	0	0	st.	k.	k.	k.
„ No. 494	0	0	0	schw.	.	0	0	st.	k.	.	k.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.

Antigenkonzentration $\frac{1}{100}$, Immunserum No. 494.

Menge des Immunserums in Kapillartropfen	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$
Methyleiweiß	0	0	0	0	m.
Aethyleiweiß	0	0	0	0	schw.

Die Untersuchung der Artspezifität ergab auch beim Methyleiweiß eine sehr weitgehende Aenderung. Die Antikörper gegen Methyl-Pferdeeweiß wirken nicht nur auf dieses, sondern auch auf Methyleiweiß vom Huhn und selbst vom Kaninchen, d. i. jener Art, von der die Immunseren stammen. Die quantitativen Verhältnisse sind ähnlich, wie sie schon beim Acetyleiweiß gefunden wurden. Bei der Prüfung mit absteigenden Antigenmengen bei gleichbleibender, genügender Quantität des Immunserums war der Unterschied zwischen den einzelnen Eiweißarten gering und dem Sinn nach wechselnd; wurde hingegen eine Antigenkonzentration angewendet und die Titration durch Verminderung der Serummenge vorgenommen, so resultierte die nach abnehmender Reaktionsstärke geordnete Reihenfolge: Pferd, Huhn, Kaninchen.

1 Kapillartropfen Immunserum = 0,003 ccm. Ablesung nach 1 Stunde, 37°.

Immunseren gegen Pferde-Methyleiweiß No.	475	477	482	488	494	Kochsalzlösung	Immunserum gegen Alkohol-eiweiß No. 1
Methyleiweiß Pferd $\frac{1}{100}$	0	0	0	0	0	k.	k.
„ „ $\frac{1}{200}$	0	0	0	0	0	.	.
„ „ $\frac{1}{400}$	0	0	0	0	0	.	k.
„ „ $\frac{1}{800}$	st.	s. st.	f. k.	k.	s. st.	.	.

Immunserum gegen Pferde-Methyleiweiß No.	475	477	482	488	494	Koch- salz- lösung	Immun- serum gegen Alkohol- eiweiß No. 1
Methyleiweiß Huhn $\frac{1}{100}$	0	0	0	0	0	k.	k.
" " $\frac{1}{200}$	0	0	0	0	0	.	.
" " $\frac{1}{400}$	0	0	Sp.	Sp.	0	.	k.
" " $\frac{1}{800}$	st.	s. st.	k.	k.	s. st.	.	.
Methyleiweiß Kaninchen $\frac{1}{100}$	0	0	0	0	0	k.	k.
" " $\frac{1}{200}$	0	0	0	0	0	.	.
" " $\frac{1}{400}$	0	0	Sp.	st.	0	.	k.
" " $\frac{1}{800}$	m.	schw.	k.	k.	schw.	.	.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Antigen in der Konzentration $\frac{1}{100}$.

Immunserum gegen Pferde-Methyleiweiß No.	477					482					Koch- salz- lösung
Menge des Immunserums in Kapillartropfen	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	
Methyleiweiß Pferd	0	0	0	0	st.	0	0	0	0	k.	k.
" Huhn	0	0	0	f. k.	k.	0	0	s. st.	k.	k.	k.
" Kaninchen	0	0	Sp.	f. k.	k.	0	Sp.	f. k.	k.	k.	k.
Kochsalzlösung	k.	k.

Immunserum gegen Pferde-Methyleiweiß No.	488					494				
Menge des Immunserums in Kapillartropfen	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$
Methyleiweiß Pferd	0	0	0	0	s. st.	0	0	0	0	schw.
" Huhn	0	0	schw.	k.	k.	0	0	0	f. k.	k.
" Kaninchen	0	0	st.	f. k.	k.	0	0	Sp.	k.	k.
Kochsalzlösung	k.	k.

Aehnlich wie bei den vorhergehenden Untersuchungen wurde wieder die Wirkung der Immunseren auf ein Pflanzen-eiweiß, nämlich Methyledestin, geprüft.

Edestin¹⁾ wird, um es in feiner Verteilung zu erhalten, in verdünnter Lösung (in 5-proz. NaCl-Lösung) mit Alkohol gefällt, dann in ganz ähnlicher Weise, wie es oben beschrieben wurde, mit Diazomethan behandelt. Da die Aufschwemmung des Präparates viele grobe Partikel enthielt, wurde eine sehr konzentrierte Suspension in 1-proz. Lösung hergestellt, kurze

1) Das Präparat wurde durch Extrahieren von Hanfsamen in 5-proz. NaCl-Lösung bei ungefähr 60° dargestellt und auf gleiche Weise umkristallisiert.

Zeit zentrifugiert und so eine feine Suspension gewonnen, die in 1 ccm 0,0006 organische Substanz enthielt, also ungefähr gleich konzentriert war wie die $\frac{1}{100}$ Aufschwemmung des gewöhnlich verwendeten Präparates aus Serumeiweiß.

1 Kapillartropfen Immunserum. Ablesung nach 1 Stunde, 37°.

Immunserum gegen Pferde-	Natives Eiweiß		durch HCl ge- fälltes Eiweiß		Coctoieiweiß		Alkoholeiweiß		Acetyl- eiweiß			Methyl- eiweiß			Diazoeiweiß (Rind)		Kochsalzlösung
Numer der Immunseren	417	50	85	43	1	2	444	448	449	475	482	488	53				
Methyledestin	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.	Sp.	schw.	k.	k.			
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.			

Der Versuch ergibt eine nicht starke, aber in Anbetracht der Kontrolleproben mit anderen Immunseren nicht zu bezweifelnde Wirkung der Methyleiweiß-Antiseren auch auf Methyledestin.

Einige vorhergehende Untersuchungen und die vorliegende wurden dadurch möglich, daß, wie es sich zeigte, auch ungelöste Eiweißkörper, wenn sie genügend fein suspendiert sind, zur Anstellung von Komplementbindungsreaktionen sich gut eignen. Es lag nahe, zu prüfen, ob mit diesen Suspensionen¹⁾ nicht auch Flockungsreaktionen erzielt werden können. Solche Reaktionen finden wirklich statt. Wenn z. B. 0,2 ccm einer $\frac{1}{100}$ Verdünnung²⁾ von methyliertem Serumeiweiß mit 2 Kapillartropfen homologen Immunserums versetzt wurden, war am nächsten Tag (1 Stunde Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten) die Probe geklärt, und auf dem Boden des Röhrchens war ein scharf begrenztes, grobflockiges Häutchen gebildet, ähnlich wie bei der Bakterienagglutination, während die Kontrollprobe noch deutlich trübe war und das Sediment aussah wie bei einer Probe nicht agglutinerter Bakterien. Aehnliche Reaktionen waren bei Acetyleiweiß und den dazugehörigen Immunseren zu beobachten.

Die Ergebnisse dieser Reaktion stimmen aber nicht mit denen der Komplementbindung überein. Zwar reagierten sowohl das methylierte als das acetylierte Protein immer mit den entsprechenden Immunseren und den Eiweißester-Seren (s. o.), aber manchesmal nicht stark, und andererseits wurden die genannten Antigene auch durch einzelne Immunseren anderer

1) Mehrmals war es zweckmäßig, die Suspensionen leicht zu zentrifugieren, um grobe Partikel abzuschneiden.

2) Die Reaktion gelingt bei stark wirkenden Seren auch mit viel konzentrierteren Aufschwemmungen.

Art ausgeflockt. So reagierte z. B. das Methylantigen auch mit je einem Cocto- und Diazoantiserum und einzelnen Acetylantiseren, und ähnlich verhielt sich das Acetylantigen. Normalseren von Kaninchen und einige Bakterienimmenserren waren hingegen wirkungslos. In Anbetracht dieses Verhaltens, das vorläufig eine Regel nicht erkennen ließ, wurde die eigentümliche Reaktion, die, wenn auch unspezifisch, doch als Immunisierungsfolge anzunehmen ist¹⁾, zunächst nicht weiter untersucht. Die Resultate gaben Veranlassung, die Komplementbindungsreaktion des Methylantigens nochmals auf ihre Strukturspezifität zu prüfen und die Antigenkonzentration in einem größeren Bereich als früher zu variieren²⁾, um möglicherweise doch ähnliche Unregelmäßigkeiten, wie bei der Flockung, zu entdecken. Es ergab sich aber wieder ein völlig regelmäßiges Verhalten, das die oben wiedergegebenen Ergebnisse bestätigt, z. B. in dem folgenden Versuch, der zugleich eine Hemmung der Reaktion der Methylseren bei hohen Antigendosen zeigt. Auch eine Veränderung der Bedingungen für die Komplementbindung (Digestion 1 Stunde bei 37°, dann 2 Stunden im Eiskasten) änderte nichts Wesentliches an den Resultaten.

1 Tropfen Immunserum. Ablesung nach 1 Stunde, 37°, Nacht Eiskasten.

Immunseren gegen	Methyl-eiweiß		Cocto-eiweiß		Diazo-eiweiß	Acetyl-eiweiß		Kochsalz-lösung
Nummer der Immunseren	482	488	43	83	53	442	444	
Methyleiweiß Pferd $\frac{1}{10}$	st.	st.	k.	f. k.	s. st.	f. k.	f. k.	k.
" " $\frac{1}{20}$	Sp.	Sp.	k.	f. k.	f. k.	k.	f. k.	k.
" " $\frac{1}{40}$	0	0	k.	f. k.	f. k.	k.	k.	k.
" " $\frac{1}{100}$	0	0	k.	f. k.	f. k.	k.	k.	k.
" " $\frac{1}{400}$	0	0	k.	f. k.	f. k.	k.	k.	k.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	f. k.	.	f. k.	f. k.	k.

Die im vorhergehenden mitgeteilten Beobachtungen über die Antigeneigenschaften des methylierten Eiweißes zeigen ähnlich wie frühere Arbeiten, daß bestimmte chemische Veränderungen — auch wenn sie keine Spaltung des Eiweißmoleküls bewirken und das Gefüge der Aminosäuren nicht stören — korrespondierende Aenderungen der Antigeneigenschaften zur Folge haben, so daß den einzelnen Eiweißderivaten besondere

1) Vgl. Schürmann und Sonntag, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911, p. 490. Um das Vorhandensein derselben Substanz in den verschiedenen Antigenen kann es sich in unserem Falle wohl nicht handeln.

2) Bei hohen Konzentrationen ist es wegen der sehr dichten Trübung der Flüssigkeit notwendig, zur Ablesung die Blutkörperchen in den Proben sedimentieren zu lassen.

Antikörper entsprechen. Die Untersuchung der serologischen Eigenschaften des Methyleiweißes führt insofern noch weiter, als die Art der chemischen Veränderung des Antigens hier mit größerer Sicherheit festzustellen ist, als in den meisten, bisher vorliegenden Fällen. Nach der bekannten Wirkungsweise des verwendeten Reagens, des Diazomethans, kommt ein anderer Vorgang als eine Methylierung nicht in Betracht. Der Eintritt von Methyl erfolgt sehr wahrscheinlich in COOH , OH , NH_2 , vielleicht NH -Gruppen¹⁾. Daraus geht hervor, daß die Besetzung salzbildender Gruppen des Eiweißes durch den Eintritt von Alkyl die Antigeneigenschaft in hohem Grade ändert, die Artspezifität aufhebt und eine neue Strukturspezifität erzeugt²⁾. Die Annahmen, die in bezug auf die früher von mir mit E. Prášek und B. Jablons untersuchten Derivate gemacht wurden, erfahren somit eine volle Bestätigung. Es kommt hinzu, daß bei einer in Gemeinschaft mit J. Herzig³⁾ ausgeführten Untersuchung durch Alkoxybestimmungen nach Zeisel festzustellen war, daß auch bei der Behandlung von Eiweiß mit alkoholischen Säuren eine Alkylierung, die früher nur vermutet werden konnte⁴⁾, wirklich stattfindet. So ergaben mit 1 Proz. alkoholischer H_2SO_4 hergestellte Präparate, wie sie früher von mir und E. Prášek zur Immunisierung verwendet wurden, einen Aethoxylgehalt von ungefähr 6 Proz. In Anbetracht des benützten Reagens ist mit aller Wahrscheinlichkeit der Eintritt von Alkyl in Carboxylgruppen, eine Veresterung des Eiweißes für diesen Fall anzunehmen. Da bei der Reaktion Hydroxylgruppen kaum substituiert werden dürften⁵⁾, bei der Einwirkung von Acetanhydrid auf Eiweiß aber andererseits eine Einwirkung auf Carboxyle nicht sehr wahrscheinlich ist, so können die beschriebenen weitgehenden

1) Z. B. nach der Formel $\text{X-OH} + \text{CH}_3\text{N}_2 = \text{XOCH}_3 + \text{N}_2$.

2) Die Absorption von Stromata aus Pferdeblut (nach Sachs) für Histon und von Kaninchenstromata für Abrin wurde durch Behandlung mit Diazomethan etwas geschwächt, aber nicht aufgehoben; dabei wurden die Aufschwemmungen der Stromata gröber. Abrin und Phasin verloren durch Behandlung mit Diazomethan ihre Agglutininwirkung auf Pferde- und Taubenblut fast vollständig.

3) Biochem. Zeitschr., Bd. 67, 1914, p. 334.

4) l. c. IV. Mitteilung.

5) Positive Millonsche Reaktion.

Veränderungen der Antigenbeschaffenheit vermutlich durch die Substitution verschiedenartiger Gruppen bewirkt werden.

Zusammenfassung.

Bei der Methylierung von Serumeiweiß durch Diazomethan werden die Antigeneigenschaften ähnlich, wie in früher untersuchten Fällen, im Sinne einer Zerstörung der Artspezifität unter Auftreten einer neuen Strukturspezifität verändert. Da die Methylierung durch Diazomethan eine glatt verlaufende Reaktion ist, kann behauptet werden, daß die Veränderung des Eiweißes nur in einer Alkylierung besteht, als deren Ort Amino- (vielleicht Imino-), Hydroxyl- und Carboxylgruppen in Betracht kommen. Es genügt demnach die Substitution gewisser salzbildender Gruppen des Eiweißes, ohne weitere Veränderung seiner Struktur, zu einer völligen Umwandlung der Antigeneigenschaften.

Nachdruck verboten.

[Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitals in Wien.]

Ueber die Einwirkung von Formaldehyd auf Eiweißantigen.

VIII. Mitteilung über Antigene.

Ausgeführt mit Unterstützung der Fürstlich Liechtensteinschen Spende.

Von **Karl Landsteiner** und **Hans Lampl**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Juli 1916.)

Untersuchungen der Antigeneigenschaften mit Formaldehyd behandelten Eiweißes wurden schon mehrmals vorgenommen. Sie ergaben, daß durch Formaldehyd keine eingreifende Aenderung des antigenen Verhaltens herbeigeführt wird.

So reiht **Pick**¹⁾ die Einwirkung von Formaldehyd der Bildung von Acidalbumin oder Alkalialbuminat, der Einwirkung von Toluol oder Chloroform auf Eiweiß an, als Reaktionen, die, wenn auch mit chemischen Prozessen einhergehend, der Hauptsache nach nur das „physikalisch-chemische

1) Biochemie der Antigene. Sep.-Abdr. aus dem Handbuch von **Kolle-Wassermann**, Jena (G. Fischer) 1912, p. 20.

Gefüge“ des Moleküls ändern. v. Eisler und Löwenstein¹⁾ untersuchten die Einwirkung von Formaldehyd außer auf Toxine auf verschiedene Antikörper des Serums, die sie ungleich empfindlich fanden, und auf die präzipitable Substanz. Sie erhielten durch Injektion von Formaldehydeiweiß Präzipitine, die sowohl auf dieses als auf unverändertes Serumeiweiß einwirkten. Das Formaldehydeiweiß zeigte auch im Verhalten gegen gewöhnliches Präzipitin keinen Unterschied gegenüber unverändertem Serumeiweiß im Sinne einer „Zustandsspezifizität“, nur schien es im allgemeinen leichter fällbar zu sein. Nach Rosenau und Anderson²⁾ hat Formaldehyd keinen wesentlichen Einfluß auf die sensibilisierenden Eigenschaften von Pferdeserum und auf seine Fähigkeit, anaphylaktische Symptome auszulösen.

Die Verwendbarkeit formalisierter Bakterien für Agglutinationsproben ist hinlänglich bekannt³⁾. Nach Reiter und Silberstein⁴⁾ bleibt bei wenig intensiver Einwirkung von Formaldehyd auf Typhusbacillen deren Immunisierungsvermögen sehr gut erhalten.

Nach diesen Angaben konnte der Gegenstand als erledigt gelten, doch veranlaßten uns einige Gründe zu einer nochmaligen Untersuchung.

Zunächst die von uns festgestellte Bedeutung salzbindender Gruppen des Eiweißes, deren Veränderung durch Acylierung oder Alkylierung Umwandlungen der Spezifität hervorruft⁵⁾. Das Verhalten des Formaldehydeiweißes kann in dieser Beziehung geeignet sein, zu zeigen, daß die Beeinflussung verschiedener solcher Gruppen von ganz ungleicher Bedeutung ist. Es kommt hinzu, daß, wie wir fanden⁶⁾, eine Behandlung mit Formaldehyd (und Alkohol) hinreicht, um Serumeiweiß Antigeneigenschaften für die eigene Tierspecies zu verleihen. Hier wollten wir überprüfen, ob wirklich, wie wir damals annehmen mußten, auch solches Eiweiß, dessen Artspezifizität nicht wesentlich verändert ist, als Autoantigen wirksam sein

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 63, 1912, p. 261; vgl. ebenda, Bd. 75, p. 348.

2) Hygien. Labor. Bulletin No. 36, Washington, April 1907; vgl. Schittenhelm und Weichardt, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap., Bd. 11, 1912.

3) Cf. Marx, Die experimentelle Diagnostik, p. 77; Pick, l. c. p. 95. Ueber die Einwirkung von Formaldehyd auf Blutstromata s. Landsteiner und Prášek, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 13.

4) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 23, 1915, p. 443.

5) Landsteiner und Prášek und Landsteiner und Jablons, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20 und 21.

6) Landsteiner und Jablons, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 193.

kann. Eine weitere Veranlassung ergaben die Arbeiten von Obermayer und Willheim¹⁾. Obermayer und Willheim fanden nämlich bei Anwendung der Formoltitrationsmethode von Sørensen, daß zwar Globuline und Albumine eines Serums verschiedene Werte geben, daß aber beim Vergleich identischer Teilfraktionen beträchtliche Unterschiede des durch die Formoltitration bestimmbaren Stickstoffes zwischen Säugetier- (Rind, Pferd) und Vogelserum (Huhn, Gans) bestehen. Die Autoren sind geneigt, diese Differenzen als für die chemische Arteigenheit charakteristisch anzusehen. Man könnte demnach vermuten, daß die durch Formaldehyd beeinflussbaren Gruppen auch für die serologische Art-spezifität nicht unwesentlich sind.

In methodischer Hinsicht ist daran zu erinnern, daß, wie wir früher fanden²⁾, gewisse Eingriffe, z. B. Behandlung von Eiweiß mit wässriger Salzsäure, die Artspezifität nicht aufheben, aber deutlich beschränken. Um solche geringe Veränderungen nachweisen zu können, war es nötig, die Reaktionen der Immunseren mit Formaldehydeiweiß verschiedener Tierarten quantitativ auszuwerten, was, wie wir glauben, noch nicht geschehen ist. Die Einwirkung des Formaldehyds ließen wir in verschiedener Weise vor sich gehen.

1) 150 ccm Pferdeserum wurden mit 75 ccm 40-proz. Formaldehyd versetzt und 15 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann zur Zerstörung des Aldehyds mit einem Ueberschuß von wässrigem NH_3 versetzt, neutralisiert.

2) 200 ccm Pferdeserum wurden mit 66 ccm 40-proz. Formaldehyd 15 Stunden bei Zimmertemperatur digeriert, die dicklich gewordene Flüssigkeit mit Wasser auf 500 ccm gebracht, mit dem 3-fachen Volumen Alkohol gefällt. Der sehr grobflockige, gelatinöse Niederschlag wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen, in der Reibschale lange verrieben — besonders die zu den Reaktionen verwendeten Proben — und mit 1-proz. NaCl-Lösung auf ein Volumen von 500 ccm gebracht. Zusatz von 0,5 Proz. Phenol.

3) Mit Alkohol gefälltes Eiweiß aus 200 ccm Pferdeserum (vgl. die vorhergehenden Mitteilungen) wurde in 200 ccm 10-proz. Formaldehyd-lösung eingetragen und verrieben. Nach 24-stündiger Digestion bei Zimmertemperatur wurde filtriert, der Niederschlag öfters mit Wasser gewaschen und mit NaCl-Lösung auf ein Volumen von 250 ccm gebracht. 0,5 Proz. Phenol.

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 38, 1912, p. 331; Bd. 50, 1913, p. 369.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, 1913, p. 211.

4) 200 ccm Pferdeserum wurden mit 66 ccm 40-proz. Formaldehyd 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Um die Möglichkeit einer Veränderung der Formaldehyd-Eiweißverbindung durch NH_3 auszuschalten, wurde die Entfernung des Ueberschusses von Formaldehyd durch Dialyse gegen öfters gewechseltes Leitungswasser in einem aus Pergamentpapier gefalteten Sack vorgenommen. Nach 14-tägiger Dauer der Dialyse wurde die Lösung mit NaCl isotonisch gemacht und mit 0,4 Proz. Phenol versetzt.

Die Immunisierungen wurden nur mit Präparaten aus Pferdeserum vorgenommen.

Von Präparat 1 erhielten Kaninchen drei intraperitoneale Injektionen 10 ccm Serum entsprechender Mengen, von Präparat 2 und 3 vier bis fünf intraperitoneale Injektionen entsprechend je 5 ccm Serum. Bei Präparat 3 bildeten von 4 Tieren nur zwei brauchbare, aber nicht stark wirkende Immunkörper. Von Präparat 4 erhielten die Tiere drei intravenöse Injektionen 3 ccm Serum entsprechender Mengen, einmal mit einer intraperitonealen Injektion kombiniert. (Bezüglich des Verfahrens bei der Präzipitation und Komplementbindung und der Antigene vgl. die vorhergehenden Mitteilungen.)

Präzipitation.

Immunseren gegen Formalineiweiß 1. 0.2 ccm der Antigenverdünungen, 2 Kapillartropfen Immunserum. 1 Stunde Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten.

Antigene (Pferd)	Natives ¹⁾ Eiweiß		Cocto- eiweiß		Nitro- eiweiß		Mit HCl gefälltes Eiweiß		For- malin- eiweiß 1	
Konzentration der Antigene 1:	100	1000	10	100	1000	10	100	1000	100	1000
Immunserum No. 100	m. schw.	0	0	Sp.	0	Sp.	0	st.	Sp.	m. st.
Immunserum No. 132	m. schw.	0	0	Sp.	0	Sp.	0	m. schw.	m.	st.

Komplementbindung.

1 Kapillartropfen Immunserum gegen Formalineiweiß 1 No. 100. Doppelte, in 1 Stunde lösende Hämolysemenge. 1. Ablesung nach 30 Minuten, 2. Ablesung nach 1 Stunde.

Antigene (Pferd)	Natives Eiweiß		Coctoeiweiß		Nitroeiweiß		Mit HCl gefälltes Eiweiß		For- malin- eiweiß		Koch- salz- lösung
Konzentration der Antigene 1:	1000	5000	200	1000	5000	200	1000	5000	1000	5000	
1. Ablesung	0	0	k. f. k.	f. k.	st. s. st.	f. k.	0	Sp.	0	0	k.
2. Ablesung	0	0	k. k.	k.	k. k.	k.	0	f. k.	m.	0	.
Kochsalzlösung	k.	.	k.	.	.	k.	.	k.	k.	.	.

1) Ein ähnliches Resultat in bezug auf die Reaktionsintensität ergab die Titration von $\frac{1}{200}$ nativem und Formalineiweiß mit Immunserum No. 100 und 132 mit absteigenden Serummenngen (1— $\frac{1}{16}$ Tropfen).

2 Kapillartropfen Immunsrum No. 100. Antigenkonzentration 1:100. Ablesung nach 1 Stunde. Lysin wie oben.

Antigene (Pferd)	Alkohol-eiweiß	Eiweiß-ester	Acetyl-eiweiß	Methyl-eiweiß	Kochsalz-lösung
Immunsrum No. 100	0	k.	k.	k.	k.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	k.	.

Präzipitation.

Anordnung wie oben. Antigen: Formalineiweiß (1) 1:100.

Immunsren gegen	Natives Eiweiß	Cocto-eiweiß	Mit HCl gefälltes Eiweiß	Diazo-eiweiß	Eiweiß-ester	Acetyl-eiweiß	Methyl-eiweiß	Formalin-eiweiß
Nummer der Immunsren	50	83	85	53	361	444	475	132
	st.	Sp.?	Sp.?	0	0	0	0	st.

Anordnung wie oben. Antigene aus verschiedenartigen Seren nach Verfahren 1 hergestellt.

Antigene	Pferd	Rind	Mensch	Huhn	Kaninchen
Konzentration der Antigene 1:	100	10	100	10	100
Immunsrum No. 100	st.	0	0	0	0
Immunsrum No. 132	st.	0	0	0	0

Komplementbindung.

1 Kapillartropfen Immunsrum. Antigen: Formalineiweiß (1) 1:200. Doppelte lösende Hämolyisinmenge. Ablesung nach 1 Stunde.

Antigene	Pferd	Rind	Mensch	Huhn	Kaninchen	Kochsalz-lösung
Immunsrum No. 100	0	k.	k.	k.	k.	k.
Immunsrum No. 132	0	k.	k.	k.	k.	k.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	k.	k.	.

1 Kapillartropfen Immunsrum. Antigene (Pferd): Formalineiweiß (2, 3) 1:100. Doppelte lösende Hämolyisinmenge. Ablesung nach 1 Stunde 30 Minuten.

Immunsren gegen	Formalineiweiß 2	Formalin-eiweiß 3	Kochsalz-lösung
Nummer der Immunsren	7	623	622
Antigene: Formalineiweiß 2	0	0	schw.
Formalineiweiß 3	m.	schw.	Sp.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.

1 Kapillartropfen der Immunseren gegen natives Pferdeeiweiß, Formalineiweiß (Pferd) 2 und 3. Antigene: natives Eiweiß und Formalineiweiß 2. Doppelte lösende Hämolysemenge. (Tabelle aus 3 gleichartig ausgeführten Versuchen kombiniert.)

Antigene: natives Eiweiß	Pferd			Rind			Mensch			Huhn			Kaninchen		
Konzentration 1:	100	500	2000	100	500	2000	100	500	2000	100	500	2000	100	500	2000
Immunseren gegen Formalineiweiß 2 No. 7	s. st.	st.	0	.	.	.	s. st.	k.	k.
No. 623	Sp.	0	0	k.	k.	k.	s. st.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
Antigene: Formalineiweiß 2															
Immunseren gegen Formalineiweiß 2 No. 7	0	0	m.	f. k.	k.	.	k.	k.	.	k.	k.	.	k.	k.	.
No. 622	0	0	schw.	f. k.	f. k.	.	f. k.	f. k.	.	f. k.	k.	.	k.	k.	.
No. 615	0	.	.	f. k.	.	.	k.	.	.	k.	.	.	k.	.	.
natives Eiweiß No. 492	Sp.	Sp.	st.	k.	k.	.	k.	k.	.	k.	k.	.	k.	k.	.
No. 554	Sp.	Sp.	st.	k.	k.	.	k.	k.	.	k.	k.	.	k.	k.	.

Präzipitation.

Anordnung wie oben. Immunseren gegen Formalineiweiß 2. 2 Kapillartropfen von Immunserum No. 7, 3 Kapillartropfen von Immunserum No. 623.

Antigene: natives Eiweiß	Pferd			Rind			Mensch			Huhn			Kaninchen		
Konzentration 1:	100	500	2000	100	500	2000	100	500	2000	100	500	2000	100	500	2000
Immunserum No. 7	schw.	m.	schw.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Immunserum No. 623	st.	st.	schw.	Sp.	schw.	Sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anordnung wie oben. Immunseren gegen Formalineiweiß 4 No. 720, 721, 722, gegen natives Pferdeeiweiß No. 492, 552. Von Serum 721 werden 3, von den übrigen Immunseren 2 Kapillartropfen genommen.

Antigene: Formalineiweiß 4	Pferd			Rind			Mensch			Huhn			Kaninchen		
Konzentration 1:	100	500	2500	100	500	2500	100	500	2500	100	500	2500	100	500	2500
Immunserum No. 720	st.	m.	Sp.	Sp.	Sp.	0	0	m. Sp.	0	0	0	0	0	0	0
No. 721	s. st.	.	Sp.	Sp.	.	.	Sp.	.	.	0	.	.	0	.	.
No. 722	st.	.	m. Sp.	.	.	.	0	.	.	0	.	.	0	.	.
No. 492	s. st.	m.	Sp.	schw.	Sp.	m. Sp.	Sp.	Sp.	0
No. 552	st.	m.	.	Sp.	m. Sp.	.	Sp.	m. Sp.	.	0	0
Antigene: natives Eiweiß															
Immunserum No. 552	s. st.	st.	.	m. Sp.	0	.	m. Sp.	0	.	0	0

Die angeführten Resultate lehren, daß in bezug auf die Strukturspezifität Immunseren gegen die verschiedenen Präparate von Formaldehydeiweiß sich nicht wesentlich von gewöhnlichen Präzipitinseren unterscheiden. Die Reaktion eines gewöhnlichen Präzipitinserums gegen Formaldehydeiweiß ist im Vergleich zu nativem Eiweiß nach dem Ergebnis einiger Versuche etwas abgeschwächt¹⁾. Es zeigt sich außerdem auch bei diesen Präparaten, daß der Verteilungszustand der Eiweißkörper keinen sehr bedeutenden Einfluß auf die serologischen Eigenschaften hat. So besteht eine gegenseitige Einwirkung — wenn auch nach anderen Versuchen wohl keine vollständige Uebereinstimmung — der Seren und Antigene der Darstellungen 2 und 3, obwohl die eine Substanz aus einem grobflockigen, gelatinösen, die andere aus einem feinkörnigen, dichten Niederschlag besteht. Ferner reagieren die mit dem Niederschlag 2 erzeugten Immunseren auch mit unverändertem Serumeiweiß.

Die Hauptfrage, nämlich das Verhalten der Artspezifität, wird den früheren Befunden entsprechend beantwortet. Die gefundenen Mitreaktionen auf artfremdes Eiweiß erwiesen sich bei verschiedenen Versuchskombinationen als geringfügig und übersteigen bei dem mit Formaldehyd behandelten Eiweiß höchstens um ein Geringes das Maß solcher Mitreaktionen bei gewöhnlichen mit nativem Eiweiß hergestellten Immunseren.

Was die chemische Beschaffenheit des Formaldehydeiweißes anbelangt²⁾, so gilt als festgestellt, daß Formaldehyd auf Eiweiß unter Bildung von Methylenverbindungen von Aminosäuregruppen ($R-N=CH_2$) einwirke. Nach neueren Untersuchungen [Kossel und Gawrilow³⁾] sind aber nicht alle, z. B. nicht

1) Die in Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, p. 91, erwähnte Erscheinung dürfte vorwiegend mit einer Einwirkung des Formaldehyds auf das Präzipitinserum (oder auf den Vorgang als solchen) zusammenhängen.

2) Vgl. Benedicenti, Arch. f. Physiol., 1897, p. 219 (ältere Literatur); Blum, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 22, 1896/97, p. 127; Schwarz, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 31, 1900/01, p. 460; Sörensen, Biochem. Zeitschr., Bd. 7, 1908, p. 45 (Literatur); Eisler und Löwenstein, l. c.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 81, 1912, p. 274.

die freien Guanidin-Amidogruppen des Arginins, sondern nur bestimmte unter den im Eiweiß vorhandenen Amidogruppen zu der Verbindung befähigt. Zu diesen gehört in erster Linie eine Amidogruppe des Lysins¹⁾, denn Kossel und Gawrilow fanden mit Hilfe der Formoltitration nach Sørensen, daß wohl alle lysinhaltigen Eiweißkörper mit Formaldehyd reagieren, aber unter den gewöhnlichen Bedingungen nicht jene Proteine, die kein Lysin enthalten, z. B. Salmin und Clupein, Zein²⁾. Es ist also anzunehmen, daß die Besetzung der Amidogruppe des Lysins durch den Methylrest für die serologische Spezifität des Eiweißes fast bedeutungslos ist und daß es ausgesprochene chemische Veränderungen des Eiweißes gibt, die auf die serologische Struktur- und Artspezifität keinen wesentlichen Einfluß ausüben.

Uebrigens sind nach Kossel und Edelbacher³⁾ außer dem Lysin auch noch andere Teile des Eiweißmoleküls (z. B. der Imidazolring des Histidins) durch Formaldehyd angreifbar.

Man könnte hier an den Einwand denken, daß die Methylengruppen des Formaldehydeiweißes im Tierkörper während der Immunisierung abgespalten werden, so daß in Wirklichkeit unverändertes Eiweiß als Antigen zur Wirkung kommt. Dagegen spricht aber die schon erwähnte Tatsache der Antigenwirkung arteigenen Formaldehydeiweißes.

Das angeführte Resultat ist deshalb zu betonen, weil, wie schon erwähnt wurde, wir früher fanden⁴⁾, daß durch Alkylierung oder Acylierung salzbildender Gruppen des Eiweißes dessen serologisches Verhalten eine weitgehende Aenderung erfährt. Welche Gruppen an diesen Reaktionen beteiligt sind,

1) Ueber den Gehalt des Serumglobulins an Lysin s. Skraup, Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 245; Monatsh. f. Chem., 1907, p. 625, 1009.

2) Vgl. über die ein ähnliches Verhalten zeigende Einwirkung von HNO₃, Van Slyke und Birchard, Journ. biol. Chem., Bd. 16, 1914 p. 539.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 93, 1915, p. 396.

4) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 193.

ist noch nicht ermittelt, doch schließt Siegfried¹⁾ aus Analysen von Naphthalinsulfoderivaten des Pepsinglutinpeptons, daß gegen Formaldehyd inaktive Gruppen mit Säurechloriden zu reagieren vermögen.

Die zitierten von Obermayer und Willheim gemachten Beobachtungen müßte man, wenn sie sich weiterhin als für die Tierart charakteristisch erweisen, in der Weise deuten, daß chemische Artunterschiede der Eiweißmoleküle existieren, die auf ihr serologisches Verhalten keinen Einfluß haben und neben diesen bestehen.

Die Einwirkung von Formaldehyd auf Eiweißantigen bei erhöhter Temperatur ist noch nicht hinreichend untersucht. Einer Angabe von Eisler und Löwenstein²⁾ zufolge, die ein vorläufiger Versuch von uns zu bestätigen scheint, ist dann die Wirkung eine weitergehende, und wird die Fällbarkeit durch gewöhnliches Präzipitinserum in höherem Maße beeinträchtigt³⁾.

Zusammenfassung.

Eine nochmalige Untersuchung bestätigte die Unwirksamkeit oder den geringen Effekt einer Einwirkung von Formaldehyd auf die Artspezifität von Serumeiweiß im Gegensatz zu der früher nachgewiesenen Autoantigenwirkung derart veränderten Eiweißes.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 90, 1914, p. 271.

2) l. c. Centralbl. f. Bakt., Bd. 63, 1912, p. 261.

3) Vgl. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, p. 91.

Nachdruck verboten.

[Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitales in Wien.]

**Ueber die Einwirkung von Säure und Lauge auf Serum-
eiweißantigen (Restitution der Antigeneigenschaft).**

IX. Mitteilung über Antigene.

Ausgeführt mit Unterstützung der Fürstlich Liechtensteinschen Spende.

Von **Karl Landsteiner** und **Cuthbert Barron**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Juli 1916.)

Ueber die serologischen Eigenschaften von Acidalbumin und Alkalialbuminat liegen Angaben von Obermayer und Pick¹⁾ vor. Landsteiner und Prášek²⁾ immunisierten Kaninchen mit Pferdeserumeiweiß, das mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure $\frac{1}{4}$ Stunde bei Zimmertemperatur digeriert worden war. Dabei wurden Immunseren erhalten, die das homologe Antigen und in geringerem Grade auch natives und gekochtes Pferdeeiweiß präzipitierten. Ausgeprägter waren die Reaktionen der Antiseren gegen natives und gekochtes Eiweiß auf das Salzsäure-Antigen. Bei diesen Reaktionen zeigte sich eine gewisse Abschwächung der Artspezifität durch die Behandlung mit Salzsäure, die aber viel geringer war, als nach der Einwirkung von HNO_3 oder HNO_2 auf das gleiche Substrat.

Während bei den zitierten Versuchen die Behandlung mit Säure eine wenig eingreifende war, stellten wir uns jetzt die Aufgabe, den Effekt einer intensiven Einwirkung von Säuren und in ähnlicher Weise die durch Lauge verursachte Veränderung des Antigens zu untersuchen.

Erstens verwendeten wir ein ebenso wie früher³⁾ durch $\frac{1}{4}$ -stündige Einwirkung von rauchender HCl bei Zimmertemperatur hergestelltes Produkt (Präparat HCl I). Von diesem Präparat wurden zur Immunisierung Kaninchen 4mal Mengen, die 6 ccm des ursprünglichen Serums entsprachen, intraperitoneal injiziert.

1) Vgl. Pick, Biochemie der Antigene, Jena (G. Fischer) 1912, p. 20.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, 1913, p. 211.

3) l. c. p. 214.

Zweitens versetzten wir 150 ccm Pferdeserum mit dem gleichen Volumen rauchender HCl (11,7 normal) und hielten die Mischung 15 Stunden bei Zimmertemperatur. Dann wurde mit 600 ccm Wasser ausgefällt, wobei ein reichlicher blaugrüner Niederschlag entstand, abfiltriert und der Niederschlag durch Zusatz von Natronlauge bis zu schwach alkalischer Reaktion zum größten Teil in Lösung gebracht, von einzelnen Flocken abfiltriert. Die Lösung mit NaCl-Lösung auf ein Volumen von 150 ccm gebracht, mit 0,5 Proz. Phenol versetzt, diente zur Injektion (Präparat HCl II). 5 intraperitoneale Injektionen von je 10 ccm.

Um eine noch stärkere Veränderung zu erzielen, wurden 150 ccm Pferdeserum mit einem gleichen Volumen rauchender HCl 24 Stunden bei 37° digeriert, mit Wasser ausgefällt, der Niederschlag durch Lauge in Lösung gebracht, auf 100 ccm aufgefüllt, mit 0,5 Proz. Phenol versetzt (Präparat HCl III). 1 ccm der Lösung enthielt 0,165 organische Substanz. Von der Lösung wurden den Kaninchen je 20 ccm 4- oder 5mal intraperitoneal injiziert.

Die Untersuchung der Immunsereen geschah mit Hilfe der Komplementbindung und durch Präzipitation.

Die Methode der Komplementbindung und die Aufzeichnung der Ergebnisse wurde wie bei den vorhergehenden Untersuchungen ausgeführt.

Bei allen in den folgenden Tabellen verzeichneten Versuchen wurden Antigene aus Pferdeserum und Immunsereen, die mit Präparaten aus Pferdeserum hergestellt waren, verwendet.

Die Seren wurden nach 4 oder 5 Injektionen zu den Versuchen genommen, zeigten aber, soweit sie wirksam waren, auch nach 3 Injektionen deutliche Reaktionen.

Präzipitation.

2 Kapillartropfen der Immunsereen, 0,2 ccm der Antigenverdünnungen (Verdünnungen auf das ursprüngliche Serumvolumen bezogen). Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten.

Immunsereen gegen		HCl I		HCl II		natives Eiweiß	
Nummer der Immunsereen		603	604	505	506	553	554
Antigene	HCl I 1:100	st.	m.	st.	st.	st.	st.
	„ I 1:1000	Sp.	m.Sp.	schw.	schw.	schw.	Sp.
	HCl II 1:100	Sp.	Sp.	s. st.	st.	m.	m.
	„ II 1:1000	Sp.	Sp.	m.	m.	Sp.	Sp.
	natives Eiweiß 1:100	Sp.	Sp.	m.	m.	s. st.	s. st.
	„ „ 1:1000	schw.	schw.	m.	m.	st.	st.
	Coctoeiweiß 1:100	.	.	s. st.	st.	m.	Sp.
	„ 1:1000	.	.	m.	m.	schw.	0

Komplementbindung.

1 Kapillartropfen der mit dem Präparat HCl II erzeugten Immunsereen (505, 506). Hämolysin in 3-fach komplett lösender Dosis. Ablesung

nach 1 Stunde 37°. Antigenverdünnungen auf das ursprüngliche Serumvolumen bezogen.

Antigene	HCl II		Natives Eiweiß		Cocto-eiweiß		Nitro-eiweiß		Kochsalzlösung
Konzentration der Antigene 1:	200	1000	200	1000	200	1000	200	1000	
Immunserum No. 505	0	0	Sp.	Sp.	st.	0	f. k.	k.	k.
Immunserum No. 506	0	0	schw.	st.	f. k.	k.	k. ¹⁾	k.	k.
Kochsalzlösung	k.	.	k.	.	k.	.	k.	.	.

¹⁾/₁₀₀₀ Lysin, 2 Kapillartropfen Immunserum. Ablesung nach 1 Stunde bei 37°.

Immunseren gegen		HCl I		HCl II		natives Eiweiß	Kochsalzlösung
Nummer der Immunseren		603	604	505	506	554	
Antigene	HCl I 1:100	m.	schw.	0	0	0	k.
	" I 1:500	0	0	0	0	0	.
	" I 1:2000	0	0	0	0	0	.
	HCl II 1:100	k.	st.	st.	m.	st.	k.
	" II 1:500	k.	st.	0	0	s. st.	.
	" II 1:2000	f. k.	f. k.	0	0	f. k.	.
	HCl III 1:50	k.	k.	s. st.	st.	k.	k.
	" III 1:200	k.	k.	s. st.	st.	k.	.
	" III 1:1000	k.	k.	s. st.	st.	k.	.
	natives Eiweiß 1:100	s. st.	0	0	0	0	k.
	" " 1:500	s. st.	0	0	0	0	.
	" " 1:2000	schw.	0	0	0	0	.
Kochsalzlösung		k.	k.	s. st.	st.	k.	k.

Titration des Hämolysins (1 Stunde).

1:	900	1800	3600	7200
	k.	f. k.	st.	schw.

Wie die Tabellen zeigen, ist das Verhalten des 15 Stunden mit rauchender HCl behandelten Antigens II ziemlich ähnlich dem früher schon geprüften HCl-Antigen I, was die Relation zu anderen Antigenen, z. B. nativem oder gekochtem Pferdeserum, betrifft.

Die Immunseren HCl II wirkten stärker auf natives und Cocto-eiweiß als die Seren HCl I, aber auch diese zeigten untereinander und von den früher untersuchten gewisse quantitative Abweichungen. Wir haben, da es uns auf diesen Punkt nicht ankam, diese Unterschiede nicht näher

1) Anfänglich Hemmung.

untersucht; es wäre dazu die Herstellung und Untersuchung einer größeren Zahl von Immunseren notwendig; auch wäre vielleicht mehr auf die Verwendung optimaler Antigenkonzentrationen zu achten.

Auffallend ist nur ein Unterschied zwischen den beiden Antigenen, insofern die Seren II gut auf das Antigen I wirken, während die umgekehrten Reaktionen — Präzipitation und Komplementbindung — deutlich schwächer sind¹⁾. Immerhin gab ein in den Tabellen nicht angeführtes HCl I-Immunserum eine ziemlich beträchtliche Komplementbindung mit HCl II-Antigen bei schwacher Hämolysindosis.

Die Artspezifität der HCl I-Seren zeigte bei unserer früheren Untersuchung eine gewisse Verminderung, da eine nicht unbedeutende Reaktion des Pferdeantikörpers auch mit Rinder- und Menschen-HCl-Antigen, aber nicht mit den Präparaten aus Hühner- und Kaninchenserum eintrat. Diesmal haben wir bei den Seren HCl II nur das Verhalten gegen Huhn- und Kaninchen-HCl I-Antigen geprüft, und zwar mit negativem Ergebnis. Die Verminderung der Arteigenheit hat demnach durch die intensivere Einwirkung der Salzsäure keinen Fortschritt gemacht. Auf das HCl-Antigen III wirken die Seren I und II nur sehr wenig, die Reaktionen sind nicht mit voller Sicherheit nachweisbar²⁾. Das Ausbleiben oder die Geringfügigkeit der Reaktion wird verständlich, wenn man das Verhalten des Präparates III bei Immunisierungsversuchen in Betracht zieht. Wir fanden nämlich, daß die Seren von 3 Kaninchen, die 4 bis 5 Injektionen des Präparates III in einer Menge, deren Trockenrückstand dem von 4—5 ccm Serum entsprach, erhalten hatten, keine durch Präzipitation oder Komplementbindung sicher nachweisbaren Antikörper bildeten, wenn sie mit den Präparaten HCl I, II, III oder nativem Pferdeserum geprüft wurden; es waren mit diesen Seren nur unsichere Andeutungen von Reaktionen zu erzielen.

Die Prüfungen wurden in der gewöhnlichen Weise mit folgenden Antigenkonzentrationen vorgenommen: HCl I und II 1:100, 1:500, 1:1000, HCl III 1:50, 1:100, 1:200, 1:500, 1:1000, natives Eiweiß 1:100, 1:400, 1:2000.

1) Vgl. VII. Mitteilung, p. 126.

2) Von den Versuchen ist nur einer angeführt.

Wir schließen aus diesen Ergebnissen mit Wahrscheinlichkeit, daß die vorgenommene 24-stündige Behandlung des Serums mit einem gleichen Volumen rauchender HCl bei 37° ausreicht, um die Antigeneigenschaft des Serumeiweißes mindestens zum großen Teil zu zerstören. Allerdings versuchten wir die Immunisierung nur an 3 Tieren, aber bei den anderen HCl-Antigenen zeigten die Seren aller Tiere entweder starke oder doch wenigstens sehr deutliche Wirkungen. Die Resultate werden überdies einigermaßen durch das analoge Ergebnis von Versuchen mit durch Lauge verändertem Eiweiß bekräftigt, und in diesem Falle haben wir eine größere Zahl von Tieren (8) in den Versuch genommen.

Ueber diesen Gegenstand lagen schon Angaben von Wells¹⁾ vor und erschien, während wir unsere Versuche ausführten, eine Mitteilung von Ten Broeck²⁾.

In unseren Versuchen wurde Pferdeserum mit so viel 5,5 normaler Natronlauge versetzt, daß der Gehalt einer einfach normalen NaOH-Lösung entsprach, und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nun wurde entweder die Lösung einfach durch Zusatz von HCl neutralisiert bzw. schwach alkalisch gemacht, so daß das Eiweiß bis auf einzelne Flocken in Lösung blieb (Präparat A, Kaninchen No. 502, 503, 504), oder durch Ansäuern mit starker HCl ausgefällt, bis das Filtrat auf weiteren Zusatz keine Fällung mehr gab. Der Niederschlag wurde abgepreßt, in Wasser aufgeschwemmt, schwach alkalisch gemacht und so in Lösung gebracht, von einigen Flocken durch Gaze abfiltriert, mit 1-proz. NaCl-Lösung auf das ursprüngliche Volumen des Serums aufgefüllt und 0,5 Proz. Phenol zugesetzt (Präparat B, Kaninchen No. 509, 574, 577, 578, 579). Die Tiere erhielten von Präparat A fünf, von Präparat B vier (ein Tier drei) intraperitoneale Injektionen von 10 ccm des ursprünglichen Serums entsprechenden Mengen. Von Präparat B enthielt 1 ccm 0,0575 organische Substanz.

Das Serum der mit dem Alkalieiweiß behandelten Tiere gab ähnlich wie die oben erwähnten Seren HCl III keine oder (bei Serum 502 und 503) nur sehr schwache Komplementbindungs- und Präzipitinreaktion mit dem homologen Antigen bei der benützten Versuchsanordnung und Verwendung des Antigens in Verdünnungen von $\frac{1}{30}$ bis $\frac{1}{1000}$. Die Resultate blieben die gleichen bei der Einwirkung der NaOH-Immunsereen auf natives, Cocto- und HCl-Antigen oder bei der um-

1) Journ. infect. Dis., Vol. 6, 1909, p. 513; Vol. 9, 1911, p. 168.

2) Journ. biol. Chem., Vol. 17, 1914, p. 369.

gekehrten Anordnung (natives, Cocto-, HCl-Immunseren auf NaOH-Antigen). Wir fanden bei diesen Kombinationen höchstens unsichere Spuren von Reaktionen.

Demnach hebt auch die Behandlung mit NaOH in einfach normaler Konzentration bei Zimmertemperatur und weniger als eintägiger Einwirkung die aktiven sowohl als die passiven Antigeneigenschaften zum allergrößten Teile auf. Dieses wesentliche Resultat würde nicht geändert, wenn sich auch durch eine verfeinerte Prüfung, z. B. mit größeren Serum-mengen, Antikörper in unseren Seren in geringer Menge deutlich nachweisen ließen, und wir haben deshalb auf eine solche Prüfung verzichtet.

Die weitgehende Zerstörung des Antigens durch NaOH oder HCl unter den angeführten Bedingungen ist insofern auffallend, als sie eintritt, obwohl in den Eiweißlösungen durch Neutralisieren noch ein reichlicher Niederschlag ausfällt, also offenbar nicht stark veränderte Eiweißkörper (Acid-, Alkalialbuminat) in beträchtlicher Menge darin enthalten sind. Es gilt aber im allgemeinen die Regel, daß alle Stoffe, die noch den Charakter von Eiweißkörpern haben, auch Antigenwirkung besitzen (cf. Wells). Für das Fehlen der Antigenwirkung bei Eiweißkörpern liegt eigentlich nur ein Beispiel vor, nämlich Gelatine, die nach den Untersuchungen von Wells¹⁾ keine Anaphylaxie hervorzurufen vermag. Vielleicht gehören auch die Produkte, die durch Pepsin-HCl entstehen, hierher [vgl. Pick²⁾]. Dem reiht sich nun der von Wells, Ten Broeck und uns beobachtete Fall an. Die Methode, nach der Ten Broeck sein Präparat herstellte, weicht von der unserigen ab. Dieser Autor hielt eine 20-proz. Lösung von Eialbumin 3 Wochen lang in $n/2$ NaOH-Lösung bei 37°. Die Laugenwirkung war daher wohl eine beträchtlich intensivere als in unseren Versuchen.

Die Untersuchung von Ten Broeck nahm ihren Ausgangspunkt von Arbeiten von Dakin und Dudley³⁾. Diese Autoren prüften im

1) Journ. inf. Dis., Vol. 5, 1908, p. 449; Journ. Amer. Med. Assoc., 1908, No. 50, p. 527. Vgl. Pabis und Ragazzi, Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., Bd. 9, 1915, p. 411; Vaughan, zit. bei Wells.

2) l. c. p. 31.

3) Journ. biol. Chem., Vol. 13, 1912/13, p. 357; Vol. 15, 1913, p. 263, 271.

Anschluß an Kossel und Weiß die Einwirkung von Lauge auf Eiweiß mit Rücksicht auf die dabei stattfindende partielle Racemisierung. Von der Annahme ausgehend, daß eine Racemisierung der Aminosäurereste im Eiweiß nur dann erfolgen kann, wenn die Carboxylgruppe sich in Peptidbindung befindet, spalteten sie racemisiertes Eiweiß hydrolytisch durch Säure und schlossen aus dem Zustand der optischen Aktivität oder Inaktivität der Spaltprodukte darauf, ob sie im Eiweißmolekül mit freier oder gebundener Carboxylgruppe vorhanden sind.

Wie Dakin und Dudley und Ten Broeck fanden, ist das mit Alkali behandelte, racemisierte Eiweiß (Kasein, Eiereiweiß) vollständig resistent gegen Verdauungsfermente, wie Pepsin, Trypsin, Erepsin. Am racemisierten Kasein wurde auch festgestellt, daß es nach der Verfütterung beim Hund unverändert mit den Faeces abgeschieden wird und daß racemisierte Kaseose nach subkutaner Injektion im Harn erscheint. Die Unangreifbarkeit durch Verdauungsfermente und im Tierkörper zieht Ten Broeck zur Erklärung der auffallenden Tatsache heran, daß eine Substanz, die noch die Eigenschaften eines Eiweißkörpers hat, der Antigenwirkung entbehre, und es war eigentlich dieser Gedanke, der Dakin und Ten Broeck zu der referierten Untersuchung bewog, da festgestellt werden sollte, ob die Spaltbarkeit einer Eiweißsubstanz im Tierkörper für die Antigenwirkung notwendig ist. Nach Ergebnissen von uns¹⁾ ist ein Zusammenhang zwischen der Antigenwirkung und der Verdaubarkeit in den gewöhnlichen Verdauungsflüssigkeiten nicht anzunehmen, denn wir fanden, daß acetyliertes Eiweiß als Antigen fungiert, trotz völliger Resistenz gegen Pepsin und Trypsin im Reagenzglas. Zu einer generellen Entscheidung der Frage reichen die uns vorliegenden Tatsachen allerdings nicht aus, da wir nicht untersucht haben, ob die acylierten Proteine im Tierkörper bei parenteraler Einverleibung gespalten werden. Eine gewisse Schwierigkeit besteht in dieser Beziehung übrigens auch bei der Beurteilung der Versuche von Dakin und Dudley, denn es wäre noch notwendig, festzustellen, ob bei parenteraler, eventuell wiederholter Darreichung die injizierten Substanzen im Tierkörper auch nicht teilweise angegriffen werden.

1) Landsteiner und Jablons, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 21, 1914, p. 193; Landsteiner und Prášek, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 74, 1916, p. 388.

Man könnte andererseits annehmen, daß bei dem durch genügend intensive Säure- oder Laugenwirkung veränderten Eiweiß der Antigeneffekt deshalb nicht vorhanden ist, weil ihrem Molekül gewisse, zur Anregung der Immunkörperbildung notwendige chemische Strukturen fehlen. Eine solche Auffassung gilt für das schon erwähnte Fehlen der Antigen-eigenschaft von Gelatine als nicht unwahrscheinlich. Hier vermutet Wells, daß das Fehlen aromatischer Gruppen — abgesehen vom Phenylalanin — und zwar des Tyrosins und Tryptophans, das maßgebende Moment sei. Daß auch in dem uns vorliegenden Fall konstitutive Eigenschaften¹⁾ von Bedeutung sind, dafür scheinen die folgenden von uns gemachten Beobachtungen zu sprechen.

Da es uns, wie erwähnt, merkwürdig erschien, daß wir mit den durch Behandlung mit Säure oder Lauge erhaltenen Präparaten keine Immunkörper erhalten konnten, so versuchten wir, ob man die Substanzen nicht durch eine weitere Modifikation wieder zu Antigen verwandeln könnte. Dies geschah wirklich, als wir das Laugenpräparat mit Salpetersäure behandelten und so ein Xanthoprotein daraus herstellten.

Das, wie oben beschrieben, mit Lauge behandelte Eiweiß wurde mit Schwefelsäure ausgefällt, der Niederschlag abfiltriert und abgepreßt (ein Teil der Substanz diente zur Herstellung der oben erwähnten Lösung B), in Wasser — $\frac{2}{3}$ des zugehörigen ursprünglichen Serumvolumens — aufgeschwemmt, einige Stunden quellen gelassen, dann mit dem doppelten Volumen konzentrierter HNO_3 versetzt, wobei Lösung eintrat und sich bald gelbe Flocken ausschieden. Nach 25 Minuten langem Stehen bei Zimmertemperatur wurde mit Wasser stark verdünnt, der entstandene Niederschlag absetzen gelassen, auf ein Filter gebracht, durch Alkalisieren fast vollständig gelöst, durch Gaze filtriert und mit 1-proz. NaCl -Lösung auf das ursprüngliche Serumvolumen gebracht. Zusatz von 0,5 Proz. Phenol. Mit dieser Lösung (Präparat N) wurden 3 Kaninchen behandelt, und zwar erhielten sie 3 bis 4 Injektionen von je 10 ccm der Lösung. 1 ccm der Lösung enthielt 0,0498 organische Substanz.

Die Immunseren, mit denen die folgenden Versuche angestellt wurden, sind No. 509, 574, 577, 578, 579, hergestellt mit dem durch Lauge veränderten Eiweiß (Präparat B), dann No. 546, 547, 549, hergestellt mit dem

1) Allerdings nicht das Fehlen der erwähnten aromatischen Gruppen, denn die Reaktionen auf diese sind nach Ten Broeck bei dem racemisierten Eiweiß positiv, und auf die Anwesenheit der Tyrosingruppe deutet auch die von uns vorgenommene Nitrierung.

sueret mit Lauge, dann mit Salpetersäure behandelten Eiweißpräparat N, ferner ein durch Injektionen von diazotiertem Rinderserumeiweiß bereitetes, auch auf Xanthoprotein aus Pferdeserum gut wirkendes Serum No. 53¹⁾. Als Antigene dienten die den angeführten Immunseren homologen Präparate, ferner ein gewöhnliches Xanthoprotein aus Pferdeserum.

Präzipitation.

Anordnung wie oben. Immunserum No. 53 hergestellt mit Diazo-eiweiß aus Rinderserum, Immunserum No. 546 hergestellt mit Präparat N.

Antigene	Xanthoprotein				Präparat N				
	Konzentration der Antigene 1:								
	100	500	2000	50	100	200	400	800	1600
Immunserum No. 53	Sp.	m.	schw.	schw.	m.	m.	m.	m.	m.
Immunserum No. 546	0	0	schw.	0	0	schw.	Sp.	Sp.	Sp.

Komplementbindung.

1 Kapillartropfen Immunserum, 2—3-fach komplett lösende Hämolysinmenge. Ablesung nach 2 Stunden, 37°.

Antigene	Xantho- protein				Präparat N					Kochsalz- lösung
Konzentration der Antigene 1:	100	500	2000	50	100	200	400	800	1600	
Immunserum No. 53	Sp.	0	0	st.	Sp.	0	0	0	0	k.
Immunserum No. 546	k.	s. st.	s. st.	st.	k.	f. k.	Sp.	0	0	k.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

2 Kapillartropfen Immunserum, $\frac{1}{1000}$ Hämolysin. Ablesung nach 1 Stunde 30 Minuten, 37°.

Immunseren gegen		Präparat B					Präparat N		Kochsalzlösung
Nummer der Immunseren		509	574	577	578	579	547	549	
Antigene	Präparat B 1:20	k.	k.	k.	f. k.	s. st.	.	.	s. st.
	" " 1:100	k.	k.	k.	k.	f. k.	.	.	k.
	" " 1:500	k.	k.	k.	k.	f. k.	.	.	k.
	" " 1:1000	k.	k.	k.	k.	f. k.	.	.	.
	" " 1:5000	k.	k.	k.	k.	f. k.	.	.	.
	Präparat N 1:100	m.	s. st.	f. k.
	" " 1:500	st.	m.	f. k.
	" " 1:1000	st.	Sp.	k.
Kochsalzlösung		k.	k.	k.	k.	f. k.	s. st.	f. k.	.

1) Siehe IV. Mitteilung: Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, 1913, p. 211.

Titration (1 Stunde 30 Minuten).

1:	600	1200	2400	4800
	k.	k.	s. st.	m.

Die Versuche zeigen, daß im Gegensatz zu den fünf Seren der mit Alkalieweiß-Präparat B injizierten Tiere von den drei durch Injektionen des nitrierten Alkalieweißes hergestellten Seren zwei (No. 546, 549) sehr gut wirksam waren, d. h. bei beträchtlichen Antigenverdünnungen vollkommene Komplementbindung ergaben, mit einer breiten, stark ausprägten Hemmungszone bei höheren Konzentrationen. Eine starke Reaktion gibt mit dem Antigen N außerdem ein mit gewöhnlichem Diazoeiweiß hergestelltes Antiserum. Ähnlich ist das Ergebnis der Präzipitinproben, da auch hier eine nicht starke, aber ganz sichere Reaktion des Präparates N mit homologem Antiserum nachzuweisen war. Das Präparat N ergab ferner eine ausgesprochene Präzipitinreaktion mit dem Diazoantiserum und umgekehrt das mit dem Präparat N erzeugte Antiserum eine nicht starke, aber unverkennbare Fällung mit Xanthoprotein aus unverändertem Pferdeserum. Eine ähnliche Präzipitinreaktion beobachteten wir, als wir das durch Salzsäure der Antigenwirkung beraubte Präparat HCl III mit Salpetersäure behandelten und den so gewonnenen gelben Körper mit dem Diazoantiserum zusammenbrachten.

Präzipitation.

Anordnung wie oben. Antigen: Präparat HCl III mit HNO_3 behandelt (wie oben für das Präparat N beschrieben).

Konzentration der Antigene 1:	50	100	200	400	800
Diazoantiserum No. 53	m.	schw.	m. Sp. ¹⁾	0	0

Komplementbindung.

1 Kapillartropfen Immuns serum No. 53, $\frac{1}{800}$ Hämoly sin. Ablesung nach 45 Minuten, 37°. Antigen wie oben.

Konzentration der Antigene 1:	50	100	200	400	800	1600	3200
Diazoantiserum No. 53	Sp.	Sp.	m. Sp.	Sp.	m.	s. st.	k.
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

1) = minimale Spur.

Titration (45 Minuten).

1:	800	1600	3200	6400
	k.	f. k.	st.	Sp.

Die Verhältnisse scheinen also bei dem mit Salzsäure hergestellten Körper ähnlich zu liegen, wie bei der Laugenbehandlung; wir haben aber darauf verzichtet, auch mit diesem Präparat eine Immunisierung vorzunehmen, um die aktive Antigeneigenschaft nachzuweisen.

Man sieht aus dem Mitgeteilten, daß ein aus dem nicht-antigenen Alkalieweiß hergestelltes Xanthoprotein aktive und passive antigene Eigenschaften hat, die im wesentlichen mit denen eines gewöhnlichen Xanthoproteins übereinstimmen, so daß wahrscheinlich in beiden Fällen die durch die Salpetersäure bewirkte Aenderung der chemischen Struktur den serologischen Charakter bestimmt (vgl. Obermayer und Pick). Es ist damit in Uebereinstimmung, daß das Präparat N nicht mit Antiseren gegen natives Pferdeeiweiß reagiert (Komplementbindung und Präzipitation) und nicht mit den Seren gegen den Körper B (Komplementbindung), und umgekehrt auch nicht das Immunserum N oder Diazoantiserum mit dem Präparat B (Komplementbindung). Ob es in erster Linie die in aromatische Kerne, insbesondere das Tyrosin eingetretene Nitrogruppe ist, die die serologische Eigenart der Xanthoproteine bedingt, halten wir für nicht endgültig entschieden.

Anhangsweise teilen wir einige nicht unmittelbar zu dem Thema gehörende Versuche über Immunisierung mit Gelatine mit.

Wir führten schon an, daß Gelatine nach Wells¹⁾ keine Anaphylaxie bewirkt. Es wird angenommen (vgl. Pabis und Ragazzi), daß dieser Umstand auf dem Fehlen gewisser aromatischer Kerne beruht, doch besteht dafür kein wirklicher Beweis. Wir wollten nun sehen, ob es nicht gelingt, Immunseren mit komplementbindender Wirkung zu erhalten, und zwar wollten wir, um den möglichen Einfluß der eigentümlichen physikalischen Beschaffenheit der Gelatine auszuschalten, die Substanz ungelöst in fein verteilter Form verwenden, da wir mit diesem Verfahren bei früheren Untersuchungen²⁾ brauchbare Resultate erhalten hatten. Wir haben auch mit diesem Verfahren kein deutlich positives Ergebnis erzielt.

1) L. c.

2) IV., V., VI. Mitteilung: Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20 und 21.

Die Methode, nach der wir fein verteilte Gelatine darstellen konnten, war folgende. In einem Emailtopf wurden 500 ccm 95-proz. Alkohol auf 60° erwärmt und in die durch Rühren bewegte Flüssigkeit eine auf nahezu 100° erwärmte Gelatinelösung (5 g Gelatine in 125 ccm destilliertem Wasser) rasch eingegossen. Der Glasstab soll, um ein Zusammenballen zu vermeiden, die Gefäßwand nicht berühren. Die Mischung bleibt bis zum nächsten Tag bei Zimmertemperatur stehen und wird dann durch ein großes Papierfilter filtriert. Der vor dem Austrocknen während der langsamen Filtration geschützte Niederschlag wird mit einem Messer vom Papier abgelöst und mit in kleinen Portionen zugesetztem, etwas erwärmtem Alkohol gut verrieben, dann abfiltriert oder zentrifugiert und in 1-proz. NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Weder mit dieser feinen Emulsion erhielten wir sicher nachweisbare Immunkörper, noch dann, wenn wir zur Immunisierung eine Substanz verwendeten, die aus der fein verteilten, mit Alkohol und Aether wasserfrei gemachten Gelatine durch mehrtägige Behandlung mit dem 5-fachen Gewicht von Acetanhydrid bei Zimmertemperatur hergestellt wurde¹⁾.

Zusammenfassung.

Wird Serumeiweiß mit genügend starker Säure oder Lauge behandelt, so verliert es die Antigeneigenschaften (vgl. Wells, Ten Broeck), obwohl hoch zusammengesetzte Proteine — Acidalbumin, Alkalialbumin — noch in reichlicher Menge in den Lösungen vorhanden sind. Es gelingt aber, aus dem Alkalialbumin (wahrscheinlich auch aus Acidalbumin) wieder ein Antigen herzustellen, wenn man es mit Salpetersäure behandelt und so in ein Xanthoprotein umwandelt. Dieses Antigen gleicht nach seinen serologischen Eigenschaften nicht dem ursprünglichen Eiweiß, sondern einem aus unverändertem Eiweiß hergestellten Xanthoprotein. Als Ursache des Verlustes und Wiederauftretens von Antigeneigenschaften sind noch unbekannte Eigentümlichkeiten der chemischen Struktur der Körper anzusehen.

1) Vgl. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 193.

Nachdruck verboten.

[Aus der Dermatologischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. Karl Herzheimer).]

**Ueber die Zerstörung der Funktion alkoholischer Extrakte
bei der Wassermannschen Reaktion durch Cobragift.**

(Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Extraktwirkung bei der Wassermannschen Reaktion.)

Von Dr. med. Ernst Nathan,
Assistenten der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 8. Oktober 1916.)

Gelegentlich ihrer Untersuchungen über die Cobragiftinaktivierung des Meerschweinchenserums und deren Beziehungen zu andersartigen Inaktivierungsformen (Inaktivierung durch Schütteln, Verdünnung mit destilliertem Wasser, Bakterien, Agar-Agar, Inulin etc.) machten Hirschfeld und Klinger¹⁾ die interessante Beobachtung, daß das Cobragift die Fähigkeit besitzt, die Antigenfunktion alkoholischer Extrakte, d. h. deren Vermögen, mit syphilitischen Seren unter Komplementbindung zu reagieren, aufzuheben. Ebenso ging die antikomplementäre Wirkung der Extrakte, d. h. deren Eigenhemmung, durch Digestion mit Cobragiftlösungen verloren. Zur Erklärung ihrer Beobachtungen nahmen Hirschfeld und Klinger an, daß die Extraktlipide unter dem Einfluß der im Cobragift enthaltenen Lipase zerstört würden, wodurch der Verlust der komplementbindenden Funktion der Extrakte zu erklären war.

Reproduziert man sich jedoch die eingeschlagene Versuchsanordnung, so liegt theoretisch ein Einwand gegenüber den von Hirschfeld und Klinger erhaltenen Resultaten nahe, den die Autoren anscheinend nicht berücksichtigt haben. Bei der von Hirschfeld und Klinger befolgten Versuchsanordnung der Digestion von Cobragift mit Extrakt bzw. den Extrakt-Luesserum-Meerschweinchenserumgemischen erscheint

1) L. Hirschfeld und R. Klinger, Biochem. Zeitschr., Bd. 70, 1915, p. 398.

es nämlich denkbar, daß die von Hirschfeld und Klinger beobachtete negative Wassermannsche Reaktion, die sich ja in dem Eintritt der Hämolyse der roten Hammelblutkörperchen dokumentiert, nicht als der Ausdruck einer durch Extraktzerstörung bedingten Aufhebung der Wassermannschen Reaktion anzusprechen ist. Man konnte vielmehr auch daran denken, daß durch das Zusammenwirken von Cobragift mit Extrakt bzw. von Cobragift mit Meerschweinchenserum hämolytische Funktionen resultierten, die trotz eingetretener Komplementbindung eine Lösung der roten Blutkörperchen vermittelten und dadurch den negativen Ausfall der Wassermannschen Reaktion nur vortäuschten¹⁾.

Es erschien daher geboten, von diesen Gesichtspunkten aus die Beobachtungen von Hirschfeld und Klinger einer nochmaligen experimentellen Analyse zu unterziehen. Ueber die Resultate dieser Untersuchungen, sowie über eine Reihe dabei erhobener Befunde möchte ich mir im folgenden zu berichten erlauben.

Zu den Versuchen dienten 1-proz. Stammlösungen von Cobragift²⁾, als Blutkörperchen Hammelblut in 7—8-proz. serumfreigewaschener Suspension, als Ambozeptor inaktivierte Immunsere in 4—6-fach lösender Dosis, die durch Immunisierung von Kaninchen mit Hammelblut gewonnen worden waren.

Als Extrakte dienten alkoholische Extrakte aus Rinderherzen, die nach den Angaben von H. Sachs³⁾ durch geeigneten Cholesterinzusatz verstärkt worden waren. Die Extrakte wurden zum Gebrauch mit physiologischer Kochsalzlösung derart verdünnt, daß die Kochsalzlösung langsam unter ständigem Umschütteln tropfenweise der notwendigen, vorher abgemessenen Extraktmenge zugesetzt wurde [fraktionierte Verdünnung nach Sachs und Rondoni⁴⁾]. Zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion wurden die Extrakte auf die angegebene Weise 6-fach verdünnt.

1) Bezüglich der Literatur über die hämolytische Wirkung des Cobragiftes, sowie über die verschiedenen Formen der Aktivierung des Cobragiftes durch Serum, Lecithin, alkoholische Organextrakte usw., auf die wir hier im einzelnen nicht eingehen, sei auf die ausgezeichnete zusammenfassende Darstellung von H. Sachs, Tierische Toxine und Immunitätsforschung, im Handbuch der pathog. Mikroorganismen, 2. Aufl., Bd. 2, 1913, verwiesen.

2) Ich möchte nicht verfehlen, Herrn Prof. H. Sachs in Frankfurt a. M. für die gütige Ueberlassung der nötigen Cobragiftmenge auch an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

3) H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 46.

4) H. Sachs und P. Rondoni, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 44.

Der Grad der Hämolyse ist in den Tabellen folgendermaßen notiert:
k = komplette, fk = fast komplette, st = starke, m = mäßige, w =
wenig, Sp = Spur, Spch = Spürchen, 0 = keine Hämolyse.

Bei der Nachprüfung der Angaben von Hirschfeld und Klinger wurde, um einwandfreie Resultate zu erhalten, methodisch zunächst im allgemeinen derart verfahren, daß absteigende Mengen Cobragift mit der notwendigen Extraktmenge ($\frac{1}{6}$ 0,25 ccm) eine Stunde lang im Brutschrank digeriert wurden. Zu den derart mit Cobragift vorbehandelten Extrakten wurde hierauf zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion syphilitisches Menschenserum und als Komplement Meerschweinchenserum zugesetzt. Nach einstündiger Bindung im Brutschrank erfolgte Zusatz des hämolytischen Systems.

Um die Interferenz von hämolytischen Cobragiftwirkungen beurteilen und die dadurch bedingte Lösung der roten Hammelblutkörperchen von derjenigen Lösungszone differenzieren zu können, die durch Ausbleiben der Komplementbindung infolge Zerstörung der Antigenfunktion des Extraktes bedingt war, wurde derart verfahren, daß die Versuchsreihen mehrfach angesetzt wurden, und zwar einerseits unter Verwendung von aktivem und inaktivem Meerschweinchenserum, andererseits mit und ohne Zusatz von Immunserum im hämolytischen System. Auf diese Weise war es möglich, den Grad der durch das Cobragift im Zusammenwirken mit dem Meerschweinchenserum bzw. mit den Extraktlipoiden vermittelten Hämolyse beurteilen zu können, für die natürlich auch die gleichzeitig angesetzten Kontrollreihen von Cobragift mit Extrakt allein bzw. mit Meerschweinchenserum allein einen Maßstab abgaben.

Bei den Versuchen ergaben sich zunächst insofern widersprechende Resultate, als der Versuchsausfall bei gleicher Versuchsanordnung sich als different erwies. Bei einigen Versuchen mit verschiedenen Seren war nämlich überhaupt keinerlei Abschwächung der Antigenfunktion des Extraktes nachweisbar, bei anderen Versuchen trat nur bei den größten Cobragiftmengen Hämolyse auf, während endlich bei weiteren Versuchen sich das Versuchsergebnis als konform mit den Ergebnissen von Hirschfeld und Klinger erwies, insofern

als neben einer durch Cobragiftwirkung bedingten hämolytischen Zone eine davon getrennte Lösungszone nachweisbar war, die sich auf Extraktzerstörung und ein dadurch bedingtes Ausbleiben der Wassermannschen Reaktion zurückführen ließ.

Infolge dieser differenten Versuchsergebnisse bedurfte es einer großen Reihe von Versuchen, bis die anfangs schwierig zu übersehenden und anscheinend sich widersprechenden Verhältnisse geklärt werden, und insbesondere die Bedingungen übersehen werden konnten, unter denen eine Extraktzerstörung dem experimentellen Nachweis zugänglich wurde. Dabei war, wie schon erwähnt, vor allem die Differenzierung jener hämolytischen Zone, die durch Extraktzerstörung und dadurch verursachtes Ausbleiben der Komplementbindung bedingt war, von jenen Lösungszonen maßgebend, die durch das Zusammenwirken von Cobragift mit Extraktlipoiden bzw. mit dem aktiven Meerschweinchenserum vermittelt waren.

I. Ueber die Zerstörung der Extraktfunktion durch Cobragift.

Um in einwandfreier Weise die Zone der Extraktzerstörung nachweisen zu können, wurde folgendermaßen verfahren.

Je 0,25 ccm 6-fach verdünnten Extraktes werden in 6 parallelen Reihen a, b, c, d, e, f mit absteigenden Mengen einer 1-proz. Cobragiftlösung 1 Stunde bei 37° digeriert. Sodann erfolgt Zusatz von:

in Reihe a: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Luesserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes aktives Meerschweinchenserum;

in Reihe b: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Luesserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes inaktives Meerschweinchenserum;

in Reihe c: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Luesserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes aktives Meerschweinchenserum;

in Reihe d: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Luesserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes inaktives Meerschweinchenserum;

in Reihe e: je 0,5 ccm NaCl-Lösung;

in Reihe f: je 0,25 ccm NaCl-Lösung und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes aktives Meerschweinchenserum.

Nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° erfolgt in den Reihen a und b Zusatz des hämolytischen Systems, in den anderen Reihen von Hammelblut allein.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle I.

Die Tabelle I zeigt die Resultate der Versuche nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37°.

Tabelle I.

Menge der 1-proz. Cobragiftlösung ccm	Hämolyse von Hammelblut					
	a	b	c	d	e	f
$\frac{1}{2}$ 0,2	k	k	k	k	k	k
$\frac{1}{4}$ 0,2	k	fk	k	fk	fk	k
$\frac{1}{8}$ 0,2	Sp	Spch	w	Spch	0	k
$\frac{1}{10}$ 0,2	Sp	0	Spch	0	0	k
$\frac{1}{20}$ 0,2	w	0	0	0	0	st
$\frac{1}{64}$ 0,2	fk	0	0	0	0	w
$\frac{1}{128}$ 0,2	k	0	0	0	0	Sp
$\frac{1}{256}$ 0,2	k	0	0	0	0	Spch
$\frac{1}{512}$ 0,2	fk	0	0	0	0	0
$\frac{1}{1024}$ 0,2	Sp	0	0	0	0	0
$\frac{1}{2048}$ 0,2	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0

Der Versuch zeigt zunächst, daß in den Reihen a bis d bei den größten Cobragift Dosen ($\frac{1}{2}$ und $\frac{1}{4}$ 0,2 Cobragiftverdünnung) komplette oder fast komplette Hämolyse eingetreten ist, die, wie sich aus den Kontrollreihen e und f ergibt, teils durch das Zusammenwirken des Cobragiftes mit aktivem Meerschweinchenserum, teils, wie in den Reihen b und d, die nur inaktives Meerschweinchenserum, und in der Kontrollreihe e, die nur Extrakt enthält, durch das Zusammenwirken von Cobragift mit Extraktbestandteilen bedingt ist. Da die Hämolyse demnach auch in denjenigen Reihen eintritt, die kein vollständiges hämolytisches System enthalten, so handelt es sich also bei diesen größeren Cobragiftmengen um eine, infolge der Verwendung des Cobragiftes resultierende hämolytische Funktion, nicht jedoch um eine Immunhämolyse durch Ausbleiben der Wassermannschen Reaktion infolge einer Aufhebung der Extraktwirkung.

Anders verhält es sich jedoch mit der in Reihe a erkennbaren, von $\frac{1}{64}$ bis $\frac{1}{512}$ Cobragiftverdünnung reichenden zweiten hämolytischen Zone, die, wie die Tabelle I zeigt, durch eine Hemmungszone von der ersten, schon besprochenen hämolytischen Zone getrennt ist. Bei dieser hämolytischen Zone kann es sich nur um eine durch Ausbleiben der Komplementbindung verursachte Hämolyse der roten Blutkörperchen durch den hämolytischen Ambozeptor und das Komplement

des aktiven Meerschweinchenserums handeln; denn diese hämolytische Zone fehlt einerseits in denjenigen Reihen, die kein aktives, sondern nur inaktives Meerschweinchenserum (Reihe b) bzw. keinen Ambozeptor enthalten (Reihen c und d); sie fehlt andererseits auch in denjenigen Reihen, die ohne weiteren Zusatz nur Cobragift und Extrakt (Reihe e) bzw. nur Cobragift und aktives Meerschweinchenserum (Reihe f) enthalten. Es ergibt sich daraus also mit Notwendigkeit, daß die erwähnte hämolytische Zone nicht durch hämolytische Cobragiftwirkungen verursacht sein kann, sondern eine durch Ambozeptor-Komplementwirkung vermittelte Immunhämolysen infolge Ausbleibens der Komplementbindung durch Aufhebung der Extraktwirkung darstellt.

Die Zone der nachweisbaren Extraktzerstörung reicht in dem Versuch I nur von $\frac{1}{64}$ — $\frac{1}{512}$ ccm Cobragift. Geringere Dosen haben fast keine oder keine Zerstörung mehr hervorgerufen, da bei $\frac{1}{1024}$ der Cobragiftverdünnung fast, bei $\frac{1}{2048}$ Cobragiftverdünnung völlige Hemmung der Hämolysen, also totale Komplementbindung eingetreten ist.

Nach oben hin ist die Zone der Extraktzerstörung ebenfalls ziemlich scharf begrenzt durch eine von $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{32}$ Cobragiftverdünnung reichende Hemmungszone der Hämolysen. Zunächst lag zur Erklärung dieser Zone natürlich der Gedanke nahe, daß es sich hier um ein Ausbleiben der Extraktzerstörung, also um eine Zone positiver Wassermannscher Reaktion handeln könne. Dann hätte man allerdings supponieren müssen, daß nur bestimmte optimale Konzentrationen des Cobragiftes die Aufhebung der Extraktfunktion zu bewirken vermöchten oder daß interferierende andersartige Prozesse die Extraktzerstörung durch das Cobragift verhindert hätten. Eine Reihe spezieller Versuche zeigten aber, daß es sich bei dieser Hemmungszone nicht um eine Hemmung der Hämolysen durch Komplementbindung infolge Eintritts der Wassermannschen Reaktion handelte, sondern um eine Inaktivierung des Komplements durch Cobragift. Während nämlich im allgemeinen durch Digestion von Meerschweinchenserum mit Cobragift die Inaktivierung

des Komplements nur bei stärkeren Konzentrationen des Meerschweinchenserums eintritt, bei geringen Konzentrationen (10—25-fache Verdünnung) aber ausbleibt [Omorokow¹⁾], so genügt, wie Nathan²⁾ gezeigt hat, ein Zusatz von relativ noch recht erheblichen Verdünnungen von Menschenserum, um eine so ausgeprägte Verstärkung der antikomplementären Wirkung des Cobragiftes herbeizuführen, daß es zu einer völligen oder fast völligen Aufhebung der Komplementfunktion kommt.

Fassen wir die bisherigen Ausführungen nochmals zusammen, so ergibt sich, daß die auf den ersten Blick nur schwierig zu übersehende Unregelmäßigkeit der Reihe a im Versuch I völlig geklärt erscheint. Es folgen aufeinander eine hämolytische Zone, die durch hämolytische Cobragiftwirkung bedingt ist, zweitens eine Hemmungszone, die durch Inaktivierung des Komplements durch Cobragift verursacht ist, drittens eine hämolytische Zone, die einer Aufhebung der Wassermannschen Reaktion infolge Extraktzerstörung entspricht, und viertens wiederum eine Hemmungszone, in der sich der Eintritt der Wassermannschen Reaktion dokumentiert.

Daß diese Erklärung des Versuchsergebnisses, insbesondere die Deutung der ersten Hemmungszone als auf antikomplementärer Cobragiftwirkung beruhend, zutrifft, ergibt sich ferner auch daraus, daß die Hemmungszone in gleicher Weise wie bei Verwendung von syphilitischem Serum auch bei Verwendung von Normalserum eintritt, und daß sie andererseits unter Bedingungen ausbleibt, unter denen die antikomplementäre Funktion des Cobragiftes nicht zur Wirksamkeit gelangen kann.

Zur Demonstration dieser Verhältnisse seien die beiden nächsten Versuche mitgeteilt, von denen der erste das Eintreten der erwähnten Hemmungszone auch bei Verwendung von normalem Menschenserum zeigt.

Je 0,25 ccm 6-fach verdünnten Extraktes werden in 6 parallelen Reihen a, b, c, d, e, f mit absteigenden Mengen einer 1-proz. Cobragiftlösung 1 Stunde bei 37° digeriert. Sodann erfolgt Zusatz von:

- 1) L. Omorokow, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911.
- 2) E. Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 25, 1916, Heft 3.

in Reihe a: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Normalserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes aktives Meerschweinchenserum;
 in Reihe b: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Normalserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes inaktives Meerschweinchenserum;
 in Reihe c: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Normalserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes aktives Meerschweinchenserum;
 in Reihe d: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Normalserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes inaktives Meerschweinchenserum;
 in Reihe e: je 0,5 ccm NaCl-Lösung;
 in Reihe f: je 0,25 ccm NaCl-Lösung und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes aktives Meerschweinchenserum.

Nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° erfolgt in den Reihen a und b Zusatz des hämolytischen Systems, in den anderen Reihen von Hammelblut allein.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle II.

Tabelle II.

Menge der 1-proz. Cobragiftlösung ccm	Hämolyse von Hammelblut					
	a	b	c	d	e	f
$\frac{1}{2}$ 0,2	k	k	k	k	k	k
$\frac{1}{4}$ 0,2	k	fk	k	fk	fk	k
$\frac{1}{8}$ 0,2	m	Spch	fgk	Spch	0	k
$\frac{1}{16}$ 0,2	Sp	0	Sp	0	0	k
$\frac{1}{32}$ 0,2	m	0	Sp-w	0	0	st
$\frac{1}{64}$ 0,2	k	0	st	0	0	w
$\frac{1}{128}$ 0,2	k	0	fgk	0	0	Sp
$\frac{1}{256}$ 0,2	k	0	k	0	0	Spch
$\frac{1}{512}$ 0,2	k	0	k	0	0	0
$\frac{1}{1024}$ 0,2	k	0	k	0	0	0
$\frac{1}{2048}$ 0,2	k	0	k	0	0	0

Wie die Tabelle II zeigt, tritt auch bei Verwendung des negativen Menschenserums in den Reihen a und c bei $\frac{1}{8}$ bis $\frac{1}{32}$ Cobragiftverdünnung die auf der Verstärkung der Cobragiftinaktivierung durch Serumzusatz beruhende Hemmungszone deutlich in Erscheinung und grenzt sich markant nach oben hin von der durch die hämolytische Cobragiftfunktion, nach unten hin von der durch Immunambozeptor-Komplementwirkung (Reihe a) bzw. durch Normalambozeptor-Komplementwirkung (Reihe c) bedingten Lösungszone ab, in der sich die negative Wassermannsche Reaktion dokumentiert.

Andererseits fällt diese Hemmungszone fort, wenn man den Versuch bis zum Zusatz des hämolytischen Systems im Eistopf bei 0° anstellt, unter Bedingungen also, unter denen zwar die Komplementbindung eintritt, aber sowohl die antikomplementäre Wirkung des Cobragiftes [Morgenroth und Kaya¹⁾] als auch die die Inaktivierung begünstigende Wirkung des Serumzusatzes [Nathan²⁾] ausgeschaltet ist. Da aber, wie dieser Versuch zeigt, die Extraktzerstörung in Analogie zu der Lecithidbildung (Kyes, Kyes und Sachs) auch bei 0° eintritt, so dokumentiert sich in Folge des Wegfalls der auf der antikomplementären Cobragiftwirkung beruhenden Hemmungszone die Extraktzerstörung in viel breiterer Zone, und das Versuchsergebnis gewinnt dadurch erheblich an Uebersichtlichkeit und Klarheit.

Je 0,25 ccm 6-fach verdünnten Extraktes werden mit absteigenden Mengen einer 1-proz. Cobragiftlösung in 2 parallelen Reihen

a) 1 Stunde bei 37°,

b) 1 Stunde bei 0°

digiert.

Sodann erfolgt Zusatz von je 0,25 ccm eines 10-fach verdünnten Lueserums und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Meerschweinchenserum.

Nach 1-stündiger Digestion der Gemische in Reihe a bei 37°, in Reihe b bei 0° erfolgt Zusatz des hämolytischen Systems und die Ueberführung in den Brutschrank.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle III.

Tabelle III.

Menge der 1-proz. Cobragiftlösung ccm	Hämolyse von Hammelblut nach Digestion der Gemische	
	a) bei 37°	b) bei 0°
$\frac{1}{8}$ 0,2	Sp—w	k
$\frac{1}{16}$ 0,2	w	k
$\frac{1}{32}$ 0,2	w—m	k
$\frac{1}{64}$ 0,2	k	k
$\frac{1}{128}$ 0,2	k	k
$\frac{1}{256}$ 0,2	k	k
$\frac{1}{512}$ 0,2	k	fk
$\frac{1}{1024}$ 0,2	Sp	Sp
$\frac{1}{2048}$ 0,2	0	0
$\frac{1}{4096}$ 0,2	0	0
0	0	0

1) J. Morgenroth und R. Kaya, Biochem. Zeitschr., Bd. 8, 1908.

2) E. Nathan, l. c.

Der Versuch läßt in Reihe a deutlich die 3 aufeinander folgenden Zonen der antikomplementären Cobragiftwirkung, der Extraktzerstörung und der Komplementbindung erkennen, während, wie die Reihe b zeigt, in der bei 0° digerierten Reihe die Zone der auf antikomplementärer Cobragiftwirkung beruhenden Hemmung völlig fehlt; dagegen ist die Extraktzerstörung, wie die von $\frac{1}{8}$ bis $\frac{1}{512}$ Cobragiftverdünnung reichende Lösungszone deutlich zeigt, in gleicher Weise wie bei der bei 37° im Brutschrank digerierten Reihe eingetreten, ebenso wie die Komplementbindung.

War die Ausschaltung der antikomplementären Cobragiftwirkung in dem mitgeteilten Beispiel durch Anstellung des Versuches im Eistopf bei 0° erreicht worden, so gelingt es noch auf andere Weise, die beiden in Betracht kommenden Funktionen des Cobragiftes, die extraktzerstörende und die antikomplementäre, zu trennen, um die extraktzerstörende Komponente des Cobragiftes isoliert zur Wirkung gelangen lassen zu können. Erhitzt man nämlich die Cobragiftlösung im Wasserbad auf höhere Temperaturen, so gelingt es, wie zuerst Morgenroth und Kaya¹⁾ gezeigt haben, durch halbstündige Erwärmung auf 60° eine erhebliche Abschwächung, auf 100° eine völlige Zerstörung der antikomplementären Funktion des Cobragiftes herbeizuführen, während die extraktzerstörende Funktion keine oder eine nur in geringem Grade nachweisbare Einbuße erfährt, wie es das folgende Versuchsbeispiel zeigt.

Die Erhitzung des Cobragiftes geschah derart, daß Cobragiftproben einer 5-fachen Verdünnung der 1-proz. Lösung

- a) aktiv blieben,
- b) $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60°,
- c) $\frac{1}{2}$ Stunde auf 100°

im Wasserbad erhitzt wurden.

Sodann wurden absteigende Mengen dieser Cobragiftverdünnungen in 3 parallelen Reihen mit je 0,25 ccm 6-fach verdünntem Extrakt 1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert.

1) Morgenroth und Kaya, l. c. Vergl. auch Morgenroth und Kaya, Biochem. Zeitschr., Bd. 25, 1910.

Hierauf erfolgte zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion Zusatz von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Luesserums und je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums.

Nach 1-stündiger Digestion bei 37° erfolgte Zusatz des hämolysischen Systems.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle IV.

Tabelle IV.

Menge der 1-proz. Cobragiftlösung ccm	Wassermannsche Reaktion nach Digestion des Extraktes mit Cobragift		
	a) aktiv	b) $\frac{1}{2}$ Std. 60°	c) $\frac{1}{2}$ Std. 100°
$\frac{1}{8}$ 0,2	0	w	k
$\frac{1}{16}$ 0,2	0	fgk	k
$\frac{1}{32}$ 0,2	m	k	k
$\frac{1}{64}$ 0,2	k	k	k
$\frac{1}{128}$ 0,2	k	k	k
$\frac{1}{256}$ 0,2	k	k	k
$\frac{1}{512}$ 0,2	fgk	w	Spch
$\frac{1}{1024}$ 0,2	Sp	0	0
$\frac{1}{2048}$ 0,2	0	0	0
0	0	0	0

Die Tabelle zeigt zunächst in Reihe a die 3 aufeinander folgenden Zonen der antikomplementären Cobragiftwirkung, der Extraktzerstörung und der Komplementbindung. Während nun die Zone der Komplementbindung auch in der Reihe b, bei der der Extrakt mit der auf 60° erhitzten Cobragiftlösung digeriert worden war, und in der Reihe c, bei der der Extrakt mit der auf 100° erhitzten Cobragiftlösung behandelt worden war, in quantitativ fast gleich starkem Maße erkennbar ist, ist die Zone der antikomplementären Cobragiftwirkung in der Reihe b erheblich reduziert, in der Reihe c dagegen völlig verschwunden, so daß die Zone der Extraktzerstörung sich in wesentlich größerer Breite dokumentiert, da ja die Interferenz der antikomplementären Cobragiftwirkung ausgeschaltet ist. Das Versuchsergebnis ist also völlig demjenigen analog, das man erhält, wenn man den ganzen Versuch im Eistopf bei 0° ansetzt, wie ein Vergleich mit Tabelle III ergibt.

Diese Thermostabilität der extraktzerstörenden Cobragiftfunktion steht zunächst in scheinbarem Widerspruch mit den Erfahrungen, über die verschiedene Autoren bezüglich der

Hitzeempfindlichkeit der lecithinspaltenden Funktion des Cobragiftes berichtet haben. Nach den Angaben der früheren Autoren wird nämlich die lecithinspaltende Wirkung des Cobragiftes durch halbstündiges Erhitzen auf 100° zerstört [Kyes und Sachs¹⁾ u. a.]. Dagegen berichteten Hirschfeld und Klinger²⁾ neuerdings über eine relative und ziemlich beträchtliche Thermostabilität des von ihnen benutzten Cobragiftes. Man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man zur Erklärung dieser differenten Angaben annimmt, daß es sich bei den von den verschiedenen Autoren benutzten Giftlösungen um Präparate von individuell verschiedener Hitzeempfindlichkeit gehandelt hat, die wahrscheinlich durch einen verschiedenen Säuregehalt der benutzten Giftlösungen verursacht war. Wie nämlich Kyes und Sachs zuerst gezeigt, und Morgenroth in vielfachen Versuchen bestätigt hat, ist die Thermolabilität bzw. -stabilität des Cobragiftes in weitgehendem Maß von dem Säuregehalt der Giftlösung abhängig, derart, daß es genügt, der zu erhitzenden Cobragiftlösung einen Gehalt von $\frac{1}{18}$ Normalsalzsäure zuzusetzen, um eine absolute Thermostabilität, wenigstens halbstündigem Erhitzen auf 100° gegenüber, zu erzielen. ~

Jedenfalls ergaben besondere Versuche, die wir anstellten, um die Lecithinspaltung und die Extraktzerstörung erhitzter Cobragiftpräparate im Parallelversuch zu prüfen, daß, wie auch das bereits mitgeteilte Versuchsbeispiel bezüglich der Extraktzerstörung schon zeigt, nach halbstündigem Erhitzen einer 0,2-proz. Cobragiftlösung im Wasserbad auf 100° entweder gar keine oder nur eine ganz geringe Abschwächung der beiden erwähnten Cobragiftfunktionen bemerkbar war. Selbst nach 2-stündigem Erhitzen im Wasserbad auf 100° wirkten die Cobragiftlösungen noch in recht erheblichem Grade lecithinspaltend und extraktzerstörend, wenn auch eine gewisse Abschwächung beider Funktionen unverkennbar war.

1) P. Kyes und H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1903, No. 2—4.

2) L. Hirschfeld und R. Klinger, l. c.

Dagegen ergab sich in Bestätigung früherer Angaben, daß die antikomplementäre Funktion des Cobragiftes sich als ausgesprochen thermolabil erwies (Morgenroth und Kaya) und durch kurzdauerndes Erwärmen auf 100° sicher zerstört wurde; halbstündiges Erwärmen auf 65° schwächte die antikomplementäre Funktion des Cobragifts schon erheblich ab, und halbstündiges Erwärmen auf eine Temperatur von 70—75° zerstörte sie völlig, wie dies schon Morgenroth und Kaya gezeigt haben.

Während die extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes, wie die mitgeteilten Versuche gezeigt hatten, dadurch charakterisiert war, daß sie analog der Lecithinasefunktion sich sowohl bei 37° wie bei 0° wirksam erwies, daß sie ferner ebenfalls analog der Lecithinasefunktion durch Erhitzen auf 100° in ihrer Wirksamkeit auf den Extrakt nicht wesentlich beeinträchtigt wurde, ergaben nun weiterhin Versuche, daß ebenfalls analog der lecithinspaltenden Wirkung (Kyes und Sachs) auch die extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes durch Cholesterin in beträchtlichem Grade gehemmt wird, wie es das folgende Versuchsbeispiel demonstriert.

Es werden folgende Mischungen eines alkoholischen Herzextraktes mit 1-proz. Cholesterinlösung (alkoholisch) angesetzt:

- | | | | | | | | | | | | | |
|------|-----|-----|------------|---|-----|-----|----------------|---|---|-----|-----|---|
| I. | 3,0 | ccm | Rohextrakt | + | 6,0 | ccm | Alkohol absol. | | | | | |
| II. | 3,0 | " | " | + | 5,0 | " | " | " | + | 1,0 | ccm | } 1-proz.
alkoholische
Cholesterin-
lösung |
| III. | 3,0 | " | " | + | 4,0 | " | " | " | + | 2,0 | " | |
| IV. | 3,0 | " | " | + | 2,0 | " | " | " | + | 4,0 | " | |
| V. | 3,0 | " | " | | — | | | | + | 6,0 | " | |

Je 0,25 ccm dieser 6-fach verdünnten Rohextrakt-Cholesteringemische werden mit absteigenden Mengen 1-proz. Cobragiftlösung in 3 Parallelversuchen A, B, C 1 Stunde bei 37° digeriert. Hierauf erfolgt

im Versuch A zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion
Zusatz von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Luesserums + je 0,25 ccm
10-fach verdünnten Meerschweinchenserums;

im Versuch B desgleichen:

im Versuch C zur Prüfung der antikomplementären Funktion der Gemische 0,25 ccm NaCl-Lösung + 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums.

Nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° erfolgt im Versuch A und C Zusatz von Hammelblut und hämolysischem Ambozeptor, im Versuch B von Hammelblut und Kochsalzlösung.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle V.

Tabelle V.

A.

Mengen der 1-proz. Cobragift- lösung ccm	Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und digerierte Gemische von Meerschweinchenserum, Luesserum und Extrakt-Cholesteringemischen nach Vor- behandlung mit Cobragift				
	I	II	III	IV	V
$\frac{1}{16}$ 0,2	k	k	0	0	0
$\frac{1}{32}$ 0,2	k	k	Sp	0	0
$\frac{1}{64}$ 0,2	k	k	0	0	0
$\frac{1}{128}$ 0,2	k	0	0	0	0
$\frac{1}{256}$ 0,2	st	0	0	0	0
$\frac{1}{512}$ 0,2	Spch	0	0	0	0
$\frac{1}{1024}$ 0,2	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0

B.

Mengen der 1-proz. Cobragift- lösung ccm	Hämolyse von Hammelblut durch digerierte Gemische von Meerschweinchenserum, Luesserum und Extrakt- Cholesteringemischen nach Vorbehandlung mit Cobragift				
	I	II	III	IV	V
$\frac{1}{16}$ 0,2	0—Spch	0	0	0	0
$\frac{1}{32}$ 0,2	0—Spch	0	0	0	0
$\frac{1}{64}$ 0,2	0—Spch	0	0	0	0
$\frac{1}{128}$ 0,2	0	0	0	0	0
$\frac{1}{256}$ 0,2	0	0	0	0	0

C.

Mengen der 1-proz. Cobragift- lösung ccm	Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und digerierte Gemische von Meerschweinchenserum und Extrakt-Cholesteringemischen nach Vorbehandlung mit Cobragift				
	I	II	III	IV	V
$\frac{1}{16}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{32}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{64}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{128}$ 0,2	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k

Wie zunächst Teil A des Versuches zeigt, ist in Reihe I unter Verwendung des Rohextraktes eine deutliche, in Reihe II bei Verwendung des gleichen Extraktes nach Zusatz von 1,0 ccm einer 1-proz. Cholesterinlösung eine nur wenig geringere Aufhebung der Extraktfunktion eingetreten. Dagegen kam es bei Zusatz größerer Cholesterinmengen,

wie die Reihen III, IV und V zeigen, zu keiner nachweisbaren Zerstörung des Extraktes mehr, sondern der Extrakt erwies sich nunmehr der zerstörenden Wirkung des Cobragiftes gegenüber völlig resistent. In allen 3 Reihen ist völlige Hemmung der Hämolyse, also maximale Komplementbindung eingetreten.

Daß diese Hemmung der Hämolyse nicht auf einer stärkeren antikomplementären, d. h. eigenhemmenden Funktion der cholesterinierten Extrakte beruht, wie man a priori vielleicht hätte annehmen können, ergibt sich aus Teil C des Versuches, in dem die Cholesterinextraktgemische nach der Digestion mit Cobragift ohne Zusatz von syphilitischem Serum lediglich mit Meerschweinchenserum digeriert wurden. Wie die Tabelle zeigt, ist dabei keinerlei antikomplementäre Wirkung (Eigenhemmung) erkennbar, da in allen 5 Reihen komplette Hämolyse eingetreten ist.

Daß endlich die in Reihe I und II des Versuches A beobachtete Hämolyse wirklich eine Ambozeptorkomplementhämolyse ist infolge Ausbleibens der Komplementbindung und nicht durch eine durch das Zusammenwirken des Extraktes mit Cobragift resultierende hämolytische Funktion verursacht wurde, deren Entstehung durch den antagonistisch wirkenden Zusatz von Cholesterin in höheren Dosen eine Hemmung erfährt, zeigt Teil B des Versuches. Hier war die Versuchsanordnung die gleiche wie in Teil A, nur unterblieb zum Schluß der Zusatz von hämolytischem Ambozeptor, so daß die Interferenz von hämolytischen Cobragiftwirkungen sich deutlich hätte manifestieren müssen. Wie die Tabelle aber zeigt, ist unter diesen Versuchsbedingungen fast gar keine, bzw. keine Hämolyse eingetreten, so daß eine derartige Interferenz ebenfalls ausgeschlossen ist. Der Versuch zeigt also, daß der Zusatz bestimmter Cholesterinmengen genügt hat, um die zerstörende Wirkung des Cobragiftes zu paralysieren.

Man könnte ja immerhin noch daran denken, daß der Cholesterinzusatz rein quantitativ die Reaktionsfähigkeit des Extraktes mit dem syphilitischen Serum derart erhöht hat, daß trotz teilweiser Extraktzerstörung die der Zerstörung entgangenen Reste der charakteristischen Extraktfunktion

unter dem Einfluß der verstärkenden Wirkung des Cholesterins noch zu totaler Komplementbindung ausreichen. Wie dem aber auch sei, so liegt es im Hinblick auf die Analogie zu der Lecithinasehemmung durch Cholesterin doch wesentlich näher, auch für die extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes eine direkte Hemmung durch Cholesterin verantwortlich zu machen. Es würde sich dabei um einen Antagonismus zwischen Cholesterin und den anderen Lipoiden des Extraktes handeln, bei dem für die Möglichkeit der Einwirkung der spaltenden Funktion des Cobragiftes offenbar Verteilungsgesetze bzw. Lösungsaffinitäten maßgebend sind, wie sie z. B. auch für die antagonistische Funktion des Cholesterins gegenüber der Saponinhämolyse von Ransom nachgewiesen worden sind. Der Zusatz des Cholesterins würde dabei die Lösungsaffinität bzw. das Verteilungsgesetz der charakteristischen Cobragiftfunktion dahin modifizieren, daß sie nun nicht mehr die spezifischen, die Komplementbindung vermittelnden Extraktbestandteile tangieren kann. Ähnliche Gesichtspunkte sind ja auch schon von Kyes und Sachs für die Cholesterin- hemmung der hämolytischen Cobragift-Lecithinwirkung entwickelt worden.

Fassen wir die Tatsachen, die die extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes charakterisieren, nochmals kurz zusammen, so resultiert, daß die extraktzerstörende Wirkung des Cobragiftes sich in allen untersuchten Punkten der Lecithinasefunktion des Cobragiftes analog verhält. Wie diese entfaltet sie ihre Wirkung nicht nur bei 37°, sondern auch bei 0°; wie diese erweist sie sich bei dem von uns benutzten Präparat als thermostabil, und wie diese wird sie endlich durch Cholesterin in ihrer Wirksamkeit gehemmt¹⁾. Auf Grund dieser Analogien dürfte

1) In einer nach Abschluß dieser Arbeit erschienenen Publikation berichten R. Kudicke und H. Sachs (Biochem. Zeitschr., Bd. 76, 1916, p. 359) im Anschluß an ältere Versuche von Delezenne und Ledebt über die interessante Tatsache, daß die Gegenwart von Kalksalzen die fermentative Fettsäureabspaltung aus dem Lecithin durch Cobragift zu begünstigen vermag. Es lag daher nahe, auch den Einfluß der Kalksalze auf die der Lecithinspaltung prinzipiell entsprechende Extraktzerstörung

es wohl am naheliegendsten sein, die beiden Funktionen des Cobragiftes zu identifizieren und auch für die extraktzerstörende Wirkung die in dem Cobragift enthaltene Lecithinase verantwortlich zu machen. Es entspricht dies im übrigen in gewisser Weise wohl auch den Anschauungen von Hirschfeld und Klinger, die die extraktzerstörende Wirkung des Cobragiftes schlechthin als Lipasewirkung auffassen, ohne dafür allerdings weitere experimentelle Belege beigebracht zu haben.

Hatten wir in diesen Betrachtungen dem Cobragift eine direkt die charakteristischen Extraktbestandteile zerstörende Wirkung vindiziert, so könnte man zur Erklärung der extraktzerstörenden Wirkung des Cobragiftes jedoch auch noch Funktionen des Cobragiftes heranziehen, auf Grund deren man sich die Extraktzerstörung noch auf andersartige Weise, und zwar indirekt vermittelt vorstellen könnte. Wie nämlich Neuberg und Rosenberg¹⁾ gezeigt haben, wirkt das Cobragift Fetten und Lipoiden gegenüber deutlich spaltend ein. Dabei verändert sich die Reaktion der Gemische im Sinne der Säurebildung, und besonders das Lecithin wurde durch Cobragift in so erheblichem Grad gespalten, daß bei einige Zeit aufbewahrten Proben die abgeschiedenen Fettsäuren direkt auf der Flüssigkeit schwammen.

Bei der prinzipiellen Gleichartigkeit der Cobragiftwirkungen unter den hier analysierten Verhältnissen könnte man somit daran denken, daß auch bei der Behandlung des Extraktes mit Cobragift freie Säuren in größerer Menge entstehen. Man könnte daher weiterhin annehmen, daß die charakteristische Extraktfunktion nicht direkt durch das Cobragift zerstört wird, sondern daß die unter dem Einfluß der fermentativen Cobra-

zu untersuchen. Dabei ergab sich, daß Zusatz von Calciumchlorid in analoger Weise die Extraktzerstörung durch Cobragift in deutlicher Weise zu verstärken vermag. Ueber die Resultate dieser Versuche, sowie über Folgerungen, die sich aus ihnen für die Bewertung der von Bang inaugurierten Betrachtungsweise der hämolytischen Cobragiftwirkung ergeben, soll in einer weiteren Mitteilung berichtet werden.

1) C. Neuberg und E. Rosenberg, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 2.

giftwirkung gebildeten freien Fettsäuren erst ihrerseits entweder eine Zerstörung der charakteristischen Extraktbestandteile bewirken, oder daß sie durch die Veränderung der Reaktion lediglich antireaktiv den Mechanismus der Komplementbindung hemmen. Es sei in diesem Zusammenhang auf die Versuche von Abramow¹⁾ hingewiesen, der zeigen konnte, daß Salzsäure die charakteristische, die Komplementbindung vermittelnde Funktion des alkoholischen Organextrakts bzw. des syphilitischen Serums bereits in recht starken Verdünnungen aufzuheben vermag. Ob die Salzsäure allerdings auch auf das Zustandekommen des Komplementbindungsphänomens selbst einen hemmenden Einfluß ausübte, wie es für die alkalische Reaktion durch die Untersuchungen von Sachs und Altmann²⁾ bereits erwiesen war, mußte in den Versuchen von Abramow unentschieden bleiben, da die starke zerstörende Wirkung der Säure auf die einzelnen beteiligten Komponenten eine eindeutige Beurteilung der Versuche nicht ermöglichte.

Auch in unseren Versuchen, die wir anstellten, um durch Veränderung der Reaktion, insbesondere durch Zusatz von Alkali, die extraktzerstörende Wirkung des Cobragiftes aufzuheben, ergaben sich vorläufig keine eindeutig verwertbaren Resultate, wenn es auch schien, daß der Zusatz von Alkali die Extraktzerstörung nicht in nennenswertem Grade aufzuheben vermochte. Da die Frage jedoch nicht sicher entschieden werden konnte, möchten wir von einer Mitteilung detaillierter Versuchsprotokolle absehen.

II. Ueber die Bedeutung der biochemischen Eigenart der Extrakte für den Nachweis der Extraktzerstörung durch Cobragift.

Wie eine große Reihe von Versuchen ergeben hat, gelingt es nur unter ganz bestimmten Versuchs-

1) S. Abramow, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, 1911.

2) H. Sachs und K. Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.

bedingungen, eine Zerstörung des Extraktes unter dem Einfluß des Cobragiftes nachzuweisen.

Dagegen trat bei einer größeren Anzahl von Versuchen unter Verwendung verschiedener alkoholischer Herzextrakte bzw. verschiedener syphilitischer Sera keinerlei Abschwächung oder Aufhebung der Extraktfunktion ein. Aus einer größeren Reihe von Versuchen ergab sich nun, daß für das Versuchsergebnis, d. h. für das Eintreten oder Ausbleiben einer Extraktzerstörung zwei Momente maßgebend sind, nämlich:

I. die biochemische Eigenart des Extraktes, insofern, als einmal verschiedene geprüfte Extrakte sich verschieden stark zerstörbar erwiesen, und daß andererseits der gleiche Extrakt durch Aenderung des Mischungsverhältnisses der Lipide sich in seiner Empfindlichkeit gegenüber der Cobragiftzerstörung variieren ließ;

II. die Eigenart der geprüften syphilitischen Sera insofern, als verschiedene gleich stark positiv reagierende Sera bei Prüfung gegenüber dem gleichen mit Cobragift behandelten Extrakt eine anscheinend ganz verschieden starke Zerstörbarkeit des Extraktes zur Erscheinung brachten. Da in diesem Fall die Zerstörbarkeit des Extraktes bei Ansetzung paralleler Reihen natürlich immer die gleiche sein muß, in Wirklichkeit aber bei Anwendung verschiedener Sera eine Extraktzerstörung bei jedem Serum in ganz verschiedenem Grade nachweisbar wird, so ergibt sich mit Notwendigkeit, daß auch die Eigenart der verwandten Sera für den Nachweis der Extraktzerstörung von ausschlaggebender Bedeutung sein muß.

Zur Demonstration dieser Verhältnisse möchte ich mir gestatten, einige Versuchsbeispiele mitzuteilen.

Absteigende Mengen einer 1-proz. Cobragiftlösung werden mit je 0,25 ccm eines 6-fach verdünnten alkoholischen Extraktes (XVIII) in 15 parallelen Reihen a—p 1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert. Sodann werden jeder Reihe zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion je 0,25 ccm eines 10-fach verdünnten syphilitischen Serums und je 0,25 ccm

10-fach verdünntes Meerschweinchenserum zugesetzt, so daß im ganzen 15 verschiedene Sera zur Untersuchung kommen.

Nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° erfolgt Zusatz des hämolytischen Systems.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle VI.

Tabelle VI.

Menge der 1-proz. Cobragift- lösung ccm	Wassermannsche Reaktion nach Digestion des Extraktes mit absteigenden Dosen Cobragiftes unter Verwendung von														
	Luesserum														
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m	n	o	p
$\frac{1}{16}$ 0,2	w	0	0	0	0	0	Sp	fk	k	fk	0	0	0	0	k
$\frac{1}{32}$ 0,2	k	0	0	0	0	0	Spch	fk	k	k	0	0	0	Sp	k
$\frac{1}{64}$ 0,2	k	0	0	0	0	0	Spch—0	w	k	k	0	0	0	fk	k
$\frac{1}{128}$ 0,2	k	0	0	0	0	0	0	k	k	k	0	Spch	0	k	k
$\frac{1}{256}$ 0,2	k	0	0	0	0	0	0	k	k	fk	0	Spch	0	k	k
$\frac{1}{512}$ 0,2	fgk	0	0	0	0	0	0	fk	k	Sp	0	0	0	Spch	k
$\frac{1}{1024}$ 0,2	fk	0	0	0	0	0	0	0	k	0	0	0	0	0	Spch
$\frac{1}{2048}$ 0,2	m	0	0	0	0	0	0	0	st	0	0	0	0	0	0
$\frac{1}{4096}$ 0,2	w	0	0	0	0	0	0	0	Sp	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, ist bei den 15 geprüften Seren eine Aufhebung der Extraktfunktion in ganz verschiedenem Grade nachweisbar. Während eine Anzahl von Seren (b, c, d, e, f, l, n) keine oder, wie die Seren g und m, nur eine spurweise Beeinflussung der Extraktfunktion erkennen lassen, zeigt sich nur bei den Seren a, h, i, k, o und p eine deutlich erkennbare Lösungszone, wie sie für eine Aufhebung der Extraktfunktion charakteristisch ist, aber auch bei diesen Seren sind erhebliche quantitative Unterschiede in der Stärke der Extraktzerstörung sichtbar.

Während also bei Verwendung dieses Extraktes eine Extraktzerstörung nur unter gewissen Umständen, nämlich nur bei Verwendung bestimmter Sera, nachweisbar war, ergaben sich bei Prüfung eines zweiten Extraktes insofern andere Verhältnisse, als bei diesem zweiten geprüften Extrakt in allen Fällen eine sehr erhebliche Extraktzerstörung eintrat, unabhängig von der Individualität der benutzten Sera. Zur Demonstration sei es gestattet, folgendes Versuchsbeispiel mitzuteilen.

Absteigende Mengen einer 1-proz. Cobragiftlösung werden mit je 0,25 ccm eines 6-fach verdünnten alkoholischen Extraktes (V) in 12 parallelen Reihen a—m 1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert. Sodann wird jeder Reihe zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion je 0,25 ccm eines 10-fach verdünnten syphilitischen Serums und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Meerschweinchenserum zugesetzt, so daß im ganzen 12 verschiedene Sera zur Untersuchung kommen.

Nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° erfolgt Zusatz des hämolytischen Systems.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle VII.

Tabelle VII.

Menge der 1-proz. Cobragift- lösung ccm	Wassermannsche Reaktion nach Digestion des Extraktes mit absteigenden Dosen Cobragiftes unter Verwendung von											
	Luesserum											
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m
$\frac{1}{16}$ 0,2	k	k	k	k	k	fgk	w	k	k	k	k	k
$\frac{1}{32}$ 0,2	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
$\frac{1}{64}$ 0,2	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
$\frac{1}{128}$ 0,2	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
$\frac{1}{256}$ 0,2	k	k	k	k	k	k	w	k	k	k	k	k
$\frac{1}{512}$ 0,2	k	k	Sp	Spch	Spch	k	Spch	k	k	k	k	k
$\frac{1}{1024}$ 0,2	k	k	0	0	0	m	0	w	k	Spch	fk	k
$\frac{1}{2048}$ 0,2	w	k	0	0	0	Sp	0	Sp	0	0	Sp	k
$\frac{1}{4096}$ 0,2	0	0	0	0	0	Spch	0	Spch	0	0	0	k
$\frac{1}{8192}$ 0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	fk
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, ist in allen 12 geprüften Seren eine Extraktzerstörung deutlich erkennbar. Dabei genügen zum Teil noch relativ sehr erhebliche Verdünnungen der Cobragiftlösung, um eine völlige oder fast völlige Zerstörung der Extraktfunktion herbeizuführen, wie z. B. das Serum m erkennen läßt, bei dem noch $\frac{1}{4096}$ bis $\frac{1}{8192}$ zu einer völligen oder fast völligen Aufhebung der Extraktfunktion führten.

Um die aus den beiden mitgeteilten Versuchen sich ergebende verschiedene Zerstörbarkeit der beiden Extrakte im Parallelversuch gegenüber einer Reihe verschiedener Sera zu prüfen, um das Versuchsergebnis möglichst demonstrativ zu gestalten, wurde in einem weiteren Versuch folgendermaßen verfahren:

Das Ergebnis nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle VIII.

Hämolysé von Hammelblut durch Ambozeptor und digerierte Gemische von Meerschweinenserum, Luesserum und Extrakten nach Vorbehandlung der letzteren mit Cobragift

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Wie die Tabelle zeigt, treten die schon besprochenen Unterschiede zwischen den beiden Extrakten deutlich in Erscheinung; während bei Anwendung des Extraktes XVIII bei der Mehrzahl der geprüften Sera entweder keine oder nur eine geringe Aufhebung der Extraktfunktion erkennbar ist und nur bei wenigen Seren (IV, VII, VIII) eine Aufhebung der Extraktfunktion eingetreten ist, ist bei Anwendung des Extraktes V wieder in allen Fällen eine deutliche, teilweise wieder sehr erhebliche Zerstörung nachweisbar. Es ergibt sich also auch aus diesem Versuch, von welcher Bedeutung die biochemische Eigenart des Extraktes für den Nachweis einer Zerstörung ist, da die beiden geprüften Extrakte eine Zerstörung unter dem Einfluß des Cobragiftes in ganz verschiedenem Maße erkennen lassen. Dabei sind allerdings auch die quantitativen Differenzen in der Reaktionsstärke beider Extrakte mitzuberücksichtigen. Denn anscheinend wird der stärkere Extrakt von dem Cobragift in geringerem Grad, der schwächere Extrakt in stärkerem Grad zerstört, sei es nun, daß dabei die Menge der die Reaktion vermittelnden Substanzen, sei es, daß das Mischungsverhältnis der Lipoide das maßgebende Moment ist, das ja sowohl für die Zerstörbarkeit des Extraktes wie für seine Reaktionsfähigkeit von Bedeutung ist.

Andererseits läßt sich auch der gleiche Extrakt durch Aenderung seiner chemischen Zusammensetzung in seiner Empfindlichkeit gegenüber dem Cobragift erheblich variieren. Es genügt nämlich, durch Zusatz von alkoholischer Cholesterinlösung das Mischungsverhältnis der Lipoide im Extrakt zu verändern, um Extraktmischungen von ganz verschiedener Zerstörbarkeit zu erhalten, wie es der schon früher mitgeteilte Versuch (vgl. Tabelle V) in eklatanter Weise zeigt; sei es, daß der Cholesterinzusatz direkt die fermentative Cobragiftfunktion zu hemmen vermag, sei es, daß er rein quantitativ die Reaktionsfähigkeit des Extraktes mit dem syphilitischen Serum derart erhöht hat, daß trotz teilweiser Extraktzerstörung

die der Zerstörung entgangenen Reste der charakteristischen Extraktfunktion unter dem Einfluß der verstärkenden Funktion des Cholesterins noch zu totaler Komplementbindung ausreichen. Jedenfalls ergibt sich auch aus diesen Versuchen die Bedeutung, die der biochemischen Zusammensetzung der Extrakte, insbesondere dem gegenseitigen Mischungsverhältnis der Lipoiden und deren antagonistischen Funktionen hinsichtlich der Zerstörbarkeit des Extraktes zukommt, so daß die differente Zerstörbarkeit verschiedener Extrakte hinlänglich geklärt erscheint.

III. Die Bedeutung der Individualität der Sera für den Nachweis der Extraktzerstörung.

(Zugleich ein Beitrag zum Mechanismus der Komplementbindung.)

Wie schon erwähnt worden ist, hängt die Nachweisbarkeit der Extraktzerstörung nicht nur von der biochemischen Eigenart des Extraktes ab, sondern in ebenso hohem Grade von der Eigenart der zum Versuch benutzten syphilitischen Sera insofern, als verschiedene positiv reagierende Sera bei Prüfung gegenüber dem gleichen mit Cobragift behandelten Extrakt eine anscheinend ganz verschieden starke Zerstörbarkeit des Extraktes zur Erscheinung brachten, wie das Tabelle VI demonstriert. Da in diesem Versuch bei gleicher Eignung aller Sera die Extraktzerstörung in allen Reihen theoretisch die gleiche hätte sein müssen, in Wirklichkeit aber, wie die erwähnte Tabelle zeigt, eine Extraktzerstörung bei jedem Serum in ganz verschiedenem Grad nachweisbar ist, so ergibt sich mit Notwendigkeit, daß auch die Eigenart der verwandten Sera für den Nachweis der Extraktzerstörung von ausschlaggebender Bedeutung sein muß. Da sich nun weiterhin gezeigt hat, daß auch gleich oder ziemlich gleich stark positive Sera, d. h. Sera, die mit den gleichen Extraktverdünnungen noch totale Komplementbindung ergaben, scheinbar eine verschieden starke Zerstörbarkeit des Extraktes zur Erscheinung brachten, so liegt der Schluß nahe, daß sich hier wahrscheinlich Verschiedenheiten der Reaktionsaktivität der Sera dokumentieren, die vielleicht

im Sinne von Aviditätsdifferenzen der die positive Reaktion vermittelnden Faktoren aufzufassen sind. Man könnte sich dann vorstellen, daß der Zerstörung durch das Cobragift entgangene Extraktbestandteile bei Seren mit großer Avidität noch eine Komplementbindung zu vermitteln vermögen, wodurch die eingetretene Extraktzerstörung verschleiert wird, während bei Seren mit geringerer Avidität die der Zerstörung entgangenen Extraktreste nicht ausreichen, um zu einer nachweisbaren Komplementbindung zu führen, unter welchen Umständen also die Extraktzerstörung deutlich in Erscheinung tritt.

Sieht man jedoch von dieser rein immunobiologischen Betrachtungsweise ab, so könnte man noch immer biochemische Differenzen der einzelnen Sera für deren verschiedene Reaktionsweise verantwortlich machen. Als solche Faktoren ließen sich in Analogie zu den die Extraktzerstörung beherrschenden Momenten vielleicht ein verschiedener Lipoidgehalt, bzw. Verschiedenheiten des gegenseitigen quantitativen Verhältnisses von Cholesterin zu den anderen Lipoiden des Serums ansprechen. Ferner würde ein verschiedener Calciumgehalt des Serums, bzw. Verschiedenheiten der Calciumbindung von erheblicher Bedeutung für den Versuchsausfall sein können.

Abgesehen von allen diesen Faktoren könnte man jedoch noch eine ganz andere Möglichkeit in Betracht ziehen, die zugleich in relativ einfacher Weise die Variabilität der Versuchsergebnisse zu erklären im stande wäre. Man könnte nämlich daran denken, daß das Cobragift nicht nur auf den Extrakt, sondern auch auf das syphilitische Serum zerstörend einwirkt. Daß das Cobragift tatsächlich auch mit Serumbestandteilen im Sinne fermentativer Spaltung zu reagieren vermag, ergibt sich bereits aus den Versuchen von Delezenne und Ledebt^{1) 2)}. Man konnte daher daran

1) C. Delezenne und S. Ledebt, Compt. rend. Acad. Scienc., T. 152, 1911, p. 790; T. 153, 1911, p. 81; T. 155, 1912, p. 1101.

2) Vgl. hierzu insbesondere auch H. Sachs, Tierische Toxine und Immunitätsforschung, I. c.

denken, daß das Cobragift nicht nur die charakteristische Funktion des Extraktes, sondern auch des syphilitischen Serums aufzuheben vermochte, und der Gedanke lag dann nahe, die Variabilität der Versuchsergebnisse bei Prüfung des gleichen Extraktes gegenüber verschiedenen syphilitischen Seren durch eine individuell verschieden starke Resistenz der Sera gegenüber der fermentativen Cobragiftwirkung, durch einen verschieden starken Gehalt an syphilitischem Reaktionskörper oder endlich durch eine verschieden starke Avidität der der Zerstörung entgangenen charakteristischen, die Komplementbindung vermittelnden Funktionen zu erklären. Doch erlaubten die zur Entscheidung dieser Frage angestellten Versuche vorläufig keine eindeutige Entscheidung, da ja die Interferenz der extraktzerstörenden Cobragiftfunktion nie mit Sicherheit auszuschließen war.

Wie dem auch sei, so ergibt sich aus den bisher mitgeteilten Versuchen und Betrachtungen, von wie erheblicher Bedeutung für den Nachweis einer Extraktzerstörung die Individualität der syphilitischen Sera ist, sei es nun, daß immuno-biologische, sei es, daß biochemische Differenzen für diese Unterschiede im Verhalten der einzelnen Sera von ausschlaggebender Bedeutung sind. Es ergibt sich dies auch weiterhin aus Versuchen, bei denen die Einwirkungsmöglichkeit des Cobragiftes auf den Extrakt mit der Komplementbindungsreaktion gleichsam konkurrierte, wodurch der verschiedenartige Einfluß der Sera auf die Extraktzerstörung in besonders eklatanter Weise zur Geltung kam. Dabei ergab sich gleichzeitig Gelegenheit, mittels dieses neuartigen Prinzips der isolierten Ausschaltungsmöglichkeit der Extraktfunktion durch Cobragift die Beziehungen des Extraktes zum syphilitischen Serum und zum Komplement bei der Komplementbindungsreaktion einer experimentellen Analyse zu unterziehen.

Bei der Demonstration dieser Verhältnisse möchte ich von folgendem Versuchsbeispiel ausgehen.

Absteigende Mengen einer 1-proz. Cobragiftlösung werden in je 3 parallelen Reihen

- a) mit je 0,25 ccm 6-fach verdünnten Extraktes,
- b) mit je 0,25 ccm 6-fach verdünnten Extraktes und je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Luesserums,
- c) mit je 0,25 ccm 6-fach verdünnten Extraktes, je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Luesserums und je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums

1 Stunde bei 37° digeriert.

Sodann erfolgt Zusatz

in Reihe a) von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Luesserums und je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums,

in Reihe b) von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums,

Reihe c) bleibt ohne Zusatz.

Nach nochmaliger 1-stündiger Digestion der Gemische im Brutschrank bei 37° erfolgt Zusatz des hämolytischen Systems.

In der angegebenen Weise werden im ganzen 12 syphilitische Sera in je 3 parallelen Reihen zum Versuch angesetzt.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle IX.

Tabelle

Menge der 1-proz. Cobragift- lösung ccm	Hämolyse von Hammelblut																	
	Luesserum I			Luesserum II			Luesserum III			Luesserum IV			Luesserum V			Luesserum VI		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.
1/53 0,2	0	0	0	k	k	0	w	k	Sp	0	0	0	k	m	Spch	fgk	w	0
1/54 0,2	0	0	0	k	Sp	0	w	k	Spch	0	0	0	k	m	Spch	k	fk	0
1/128 0,2	0	0	0	Sp	Sp	0	w	k	Spch	0	0	0	k	w	Spch	Sp	fk	0
1/256 0,2	0	0	0	0	Spch	0	0	k	0	0	0	0	st	w	0	0	k	0
1/512 0,2	0	0	0	0	0	0	0	k	0	0	0	0	0	fk	0	0	k	0
1/1024 0,2	0	0	0	0	0	0	0	k	0	0	0	0	0	m	0	0	fgk	0
1/2048 0,2	0	0	0	0	0	0	0	k	0	0	0	0	0	m	0	0	w	0
1/4096 0,2	0	0	0	0	0	0	0	k	0	0	0	0	0	m	0	0	Spch	0
1/8192 0,2	0	0	0	0	0	0	0	st	0	0	0	0	0	w	0	0	0	0
1/16384 0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	w	0	0	0	0
1/32768 0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, verhalten sich die einzelnen Sera hinsichtlich des Nachweises einer Extraktzerstörung sowohl

untereinander wie auch jedes Serum innerhalb der drei parallel geprüften Gemische verschieden.

Zunächst finden sich verschiedene Sera, bei denen eine Extraktzerstörung in einer der drei Reihen entweder überhaupt nicht (Serum I und IV) oder nur in ganz geringem Grad (Serum VIII) nachweisbar ist. Diese Befunde, denen zufolge bei manchen Seren wegen ihrer besonderen Eigenart eine Extraktzerstörung überhaupt nicht nachweisbar ist, entsprechen den schon früher mitgeteilten Erfahrungen und erweitern sie insofern, als sie zeigen, daß unter diesen Umständen weder der gleichzeitige Zusatz eines syphilitischen Serums noch der gleichzeitige Zusatz des syphilitischen Serums und Meerschweichenserums zu den Cobragiftextraktgemischen eine Aenderung des Versuchsergebnisses herbeizuführen im stande ist.

Bei allen übrigen Seren ist in den Reihen a, in denen die Cobragiftextraktgemische zunächst

IX.

Hämolyse von Hammelblut																	
Luesserum VII			Luesserum VIII			Luesserum IX			Luesserum X			Luesserum XI			Luesserum XII		
a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Extrakt	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.	Extrakt	Extrakt + Luesserum	Extrakt + Luesserum + Meersch.-S.
k	k	k	Sp	Sp	Sp	k	k	Sp	k	st	Spch	k	k	k	k	k	k
k	k	k	w	Sp	Spch	k	k	Sp	k	m	0	k	k	k	k	k	k
k	k	fgk	w	Spch	Spch	k	k	0	k	Sp	0	k	k	fk	k	k	k
k	k	st	Spch	w	0	k	k	0	k	Spch	0	k	k	w	k	k	fgk
Spch	k	0	0	Spch	0	0	Sp	0	0	0	0	k	k	Spch	w	k	Spch
0	k	0	0	0	0	0	Sp	0	0	0	0	0	k	0	0	k	0
0	fgk	0	0	0	0	0	Spch	0	0	0	0	0	k	0	0	k	0
0	Spch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp	0	0	Sp	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

allein ohne Zusatz digeriert wurden, eine mehr oder weniger starke Extraktzerstörung nach-

weisbar. Es ist nun von Interesse zu verfolgen, inwieweit die Nachweisbarkeit dieser Extraktzerstörung in den Reihen b, in denen den Cobragiftextraktgemischen sofort das syphilitische Serum zugesetzt war, bzw. in den Reihen c, in denen den Cobragiftextraktgemischen syphilitisches Serum und Meerschweinchenserum zugesetzt war, modifiziert erscheint.

Betrachtet man zunächst die Reihen b, so finden sich zunächst 3 Sera (Serum II, V und X), bei denen der Zusatz des Serums zu einer deutlich geringeren Aufhebung der Extraktzerstörung geführt hat, sei es nun, daß die Extraktzerstörung selbst durch den Zusatz des syphilitischen Serums eine Hemmung erfuhr, sei es, daß es sich bei den erwähnten Seren um Sera mit großer Avidität handelt; doch ist bei der getroffenen Versuchsanordnung die letztere Möglichkeit weniger wahrscheinlich, da sich der Aviditätsunterschied ja auch in den Reihen a bei den betreffenden Seren dokumentieren müßte.

Bei den übrigen Seren liegen die Verhältnisse gerade umgekehrt, denn mit Ausnahme des Serums IX, bei dem die Extraktzerstörung in den Reihen a und b annähernd gleich stark ist, ist bei dem Rest der Sera die Extraktzerstörung in den Reihen b mit dem direkten Serumzusatz erheblich stärker, wie das die Sera 3, 6, 7, 11 und 12 zeigen. Bei diesen Seren hat also der Serumzusatz geradezu begünstigend auf die Zerstörung des Extraktes durch Cobragift eingewirkt.

Ohne auf diese Verhältnisse näher einzugehen, sei nur auf Beobachtungen von Dold und Ungermann¹⁾ verwiesen, die vielleicht eine gewisse Analogie mit den von uns beobachteten Verhältnissen aufweisen. Im Anschluß an die Angaben von De Waele²⁾ sowie Neufeld und Dold³⁾

1) H. Dold und E. Ungermann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911, p. 86.

2) De Waele, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, p. 478.

3) F. Neufeld und H. Dold, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 2.

über Verstärkung der Giftwirkung verschiedener Toxine durch Serum konnten Dold und Ungermann auch bei der Cobravergiftung eine deutliche Beschleunigung der Vergiftung beobachten, wenn das Cobragift vorher mit aktivem Meerschweinchenserum digeriert worden war. Zur Erklärung der beschleunigenden Wirkung nehmen Dold und Ungermann an, daß die Lipide des Serums auf das im Cobragift enthaltene Toxin als Lösungsmittel wirken und dadurch das Eindringen in die Zelle erleichtern sollen. Schließt man sich dieser Auffassung an und überträgt sie auch auf die Lecithinasewirkung des Cobragiftes, so würde der begünstigende Einfluß des Serums dem Verständnis immerhin etwas näher gerückt sein, wenn man den Serumeinfluß nicht etwa lediglich durch die Beeinflussung des Milieus erklären will [cfr. auch E. Friedberger¹⁾]. Vindiziert man so den Lipoidstoffen des Serums einen maßgebenden Einfluß auf die Einwirkung der Lecithinase auf den Extrakt, so müßte man allerdings supponieren, daß sich dieser Einfluß je nach dem Gehalt, der Art resp. dem Mischungsverhältnis der Lipide des Serums entweder als Hemmung oder als Begünstigung der Fermentwirkung dokumentieren würde.

Betrachtet man schließlich die Reihen c des Versuches, bei denen Cobragift, Extrakt, Luesserum und Meerschweinchenserum direkt miteinander gemischt wurden und bei denen infolgedessen die Extraktzerstörung der gleichzeitig einsetzenden Komplementbindungsreaktion parallel verläuft bzw. in Konkurrenz tritt, so zeigt sich, daß es bei der Mehrzahl der Seren (Serum I, II, IV, VI, X) zu völliger, bei einigen Seren (III, V, VIII, IX) zu fast völliger Komplementbindung d. h. zu keiner nachweisbaren Extraktzerstörung gekommen ist. Bei diesen Seren überwog also die Schnelligkeit der Komplementbindung die Extraktzerstörung um ein Erhebliches.

Anders liegen dagegen die Verhältnisse bei den Seren VII, XI und XII, bei denen auch unter diesen Bedin-

1) E. Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 42.

gungen eine deutliche Extraktzerstörung nachweisbar ist, und zwar handelt es sich dabei, wie die Tabelle zeigt, vornehmlich gerade um solche Sera, die in den Reihen b eine erhebliche Verstärkung der Extraktzerstörung erkennen lassen. Bei diesen Seren überwog also die Extraktzerstörung über die Komplementbindung, sei es nun, daß die Extraktzerstörung durch die besonderen Eigenarten der Sera eine derartige Verstärkung und Beschleunigung erfuhr, daß sie der Komplementbindung dadurch die Wage halten konnte, sei es, daß es sich um Sera mit sehr geringer Reaktionsfähigkeit bzw. Avidität handelt.

Daß jedenfalls auch ein längerer Kontakt des Extraktes mit dem syphilitischen Serum vor dem Cobragiftzusatz die Bedingungen der Extraktzerstörung nicht wesentlich zu ändern braucht, d. h. den Extrakt nicht vor der Zerstörung zu schützen vermag, demonstriert der folgende Versuch.

Je 0,25 ccm 6-fach verdünnten Extraktes und je 0,25 ccm 10-fach verdünnten syphilitischen Serums werden in 5 parallelen Reihen mit absteigenden Mengen einer 1-proz. Cobragiftlösung gemischt, und zwar erfolgt der Zusatz der Cobragiftlösung zu den Extrakt-Serumgemischen

in Reihe a) sofort nach der Mischung des Extraktes mit dem syphilitischen Serum,

in Reihe b) nach 10 Minuten langer Digestion des Extraktes mit dem syphilitischen Serum,

in Reihe c) nach 20 Minuten langer Digestion des Extraktes mit dem syphilitischen Serum,

in Reihe d) nach 30 Minuten langer Digestion des Extraktes mit dem syphilitischen Serum,

in Reihe e) nach 60 Minuten langer Digestion des Extraktes mit dem syphilitischen Serum

bei 37° im Brutschrank.

Nach 1-stündiger Digestion der Extrakt-Serumgemische mit der Cobragiftlösung bei 37° erfolgt Zusatz von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums.

Nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° erfolgt Zusatz des hämolytischen Systems.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle X.

Tabelle X.

Menge der 1-proz. Cobragift- lösung ccm	Hämolyse von Hammelblut				
	Zusatz des Cobragiftes zu den Extrakt-Serumgemischen				
	a sofort	b nach 10 Min.	c nach 20 Min.	d nach 30 Min.	e nach 60 Min.
$\frac{1}{22}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{64}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{128}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{256}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{512}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{1024}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{2048}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{4096}$ 0,2	k	k	k	k	k
$\frac{1}{8192}$ 0,2	0	0	0	0	Spch
$\frac{1}{16384}$ 0,2	0	0	0	0	0
$\frac{1}{32768}$ 0,2	0	0	0	0	0

Wie die Tabelle ergibt, ist auch bei den eine Stunde lang vor dem Cobragiftzusatz digerierten Gemischen des Extraktes mit dem syphilitischen Serum die Extraktzerstörung in gleicher Weise wie bei direkter Mischung der 3 Komponenten ohne vorherige Digestion eingetreten, wie das der negative Ausfall der Komplementbindungsreaktion zeigt. Die Digestion des Extraktes mit dem Serum vor dem Cobragiftzusatz vermag also nicht den Extrakt vor der Zerstörung zu schützen, sondern der Extrakt verliert auch unter diesen Umständen völlig seine komplementbindende Funktion.

Gleichgültig nun, ob man die Wassermannsche Reaktion als wahre Antigen-Antikörperreaktion betrachtet oder sich den Mechanismus der Komplementbindung bei der Wassermannschen Reaktion als auf andere Weise vermittelt vorstellt, so entbehren diese Befunde nicht eines gewissen Interesses, denn sie zeigen mit größter Deutlichkeit, daß bei der Wassermannschen Reaktion der eigentlichen Antigen-Antikörperreaktion, d. h. der Reaktion zwischen Extrakt und syphilitischem Serum nicht

die Rolle einer festen, d. h. abgeschlossenen und irreversiblen Verbindung oder eines aus der Reaktion des Extraktes mit dem Serum entstehenden Reaktionsproduktes, das nun der Träger der antikomplementären Wirkung würde, vindiziert werden darf. Vielmehr ergibt sich, daß in den selbst längere Zeit miteinander digerierten Extraktserumlösungen beide Körper sich in durchaus lockerem Gemische befinden, und daß erst der Zusatz des komplementhaltigen Meerschweinchenserums zu Reaktionsprozessen zwischen dem Extraktserumgemisch einerseits, dem Meerschweinchenserum andererseits führen muß, als deren Folge die Komplementbindung bzw. antikomplementäre Funktionen resultieren.

Der Gedanke lag nun nahe, nicht nur die Reaktion zwischen Extrakt und Luesserum, sondern auch die eigentliche Komplementbindungsreaktion auf etwaige Reversibilität zu prüfen. Es war also bei diesen Versuchen der gleiche Gesichtspunkt maßgebend, der schon Abramow¹⁾ dazu geführt hatte, den Einfluß der Reaktion auf die Komplementbindung zu untersuchen. Abramow verfuhr dabei derart, daß er digerierte Gemische von Antigen, Antiserum und Komplement mit absteigenden Mengen von Salzsäure bzw. Natronlauge behandelte. Dabei konnte jedoch eine Reversibilität der Komplementbindung bei Veränderung der Reaktion nicht nachgewiesen werden, wobei allerdings zu berücksichtigen war, daß bei der eingeschlagenen Versuchsanordnung wegen der Interferenz antikomplementärer Funktionen ein zur Reversibilität führender Einfluß der Reaktion sich nicht mit Sicherheit hätte manifestieren können. Immerhin ließen es doch andere Erfahrungen als wahrscheinlich erscheinen, daß nach stattgefundener Komplementbindung eine Reversibilität der Komplementbindung d. h. ein Freiwerden komplementärer Funktionen, nicht nachweisbar war.

1) S. Abramow, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, 1911.

Wegen dieser negativen Resultate erschien es nun von besonderem Interesse, den Einfluß des Cobragiftes auf die eingetretene Komplementbindung zu analysieren. Es war also zu untersuchen, ob in Gemischen von Extrakt, Lueserum und Meerschweinchenserum nach einstündiger Digestion, d. h. nach abgeschlossener Komplementbindung, der Zusatz von Cobragift durch Zerstörung des Extraktes eine Restitution der Komplementfunktion, d. h. ein Wiederauftreten komplementärer Funktionen zu verursachen vermochte. Tatsächlich gelang es jedoch auch unter Verwendung der extraktzerstörenden Cobragiftfunktion nicht, eine Reversibilität der Komplementbindung zu demonstrieren, so daß ich von einer Wiedergabe detaillierter Versuchsprotokolle absehen möchte.

Die von uns unter Verwendung des Cobragiftes erhobenen Befunde entsprechen in gewisser Weise den Ergebnissen, zu denen schon früher Abramow¹⁾ auf Grund seiner Versuche über den Einfluß der Reaktion auf die Komplementbindungsphänomene gekommen war. Abramow konnte nämlich zeigen, daß sowohl digerierte Gemische von Eiweißantigen und spezifischem Antiserum als auch von alkoholischem Extrakt und syphilitischem Serum durch Behandlung mit Salzsäure oder Natronlauge in gleicher Weise wie jede einzelne dieser Komponenten ihre komplementbindende Funktion verlieren. Dabei hob Salzsäure die komplementbindende Funktion der digerierten Gemische von Antigen und Antiserum bzw. von Extrakt und Syphilisserum in weit stärkerem Maße auf als Natronlauge. Was das Wesen des Vorganges betrifft, so berücksichtigte schon Abramow dabei die Möglichkeit, daß der Vorgang der Zerstörung in zwei Phasen verlaufen könnte. Man konnte nämlich daran denken, daß es unter dem Einfluß der veränderten Reaktion primär zu einer Spaltung der Antigen-Antikörperverbindung kommt, der erst sekundär der zerstörende Einfluß auf die Funktion der nunmehr isolierten Komponenten folgt. Es erschien demnach auf Grund dieser Betrachtungsweise nicht unbedingt erforderlich, für den Ver-

1) S. Abramow, l. c.

lust der komplementbindenden Funktion des Antigen-Antiserumkomplexes eine Einwirkung auf den komplementophilen Apparat verantwortlich zu machen, sondern die Annahme einer Dissoziation der Antigen-Antiserumverbindung mit sekundärer Zerstörung der isolierten Komponenten genügt völlig, um den Vorgang in befriedigender Weise dem Verständnis näher zu bringen, wenn auch, wie Abramow hervorhob, eine Vorstellung über die Angriffsstelle von Säure und Alkali auf Grund des vorliegenden Materials nicht genauer präzisierbar war.

Involvierte diese Betrachtungsweise bereits die Anschauung, daß das Antigen-Antiserumgemisch auch nach längerer Digestion nur eine lockere dissoziabile Verbindung darstellt, so erfährt diese Anschauung durch unsere Versuche eine wesentliche Bestätigung und Erweiterung. Denn wie die Versuche zeigen, vermag das Cobragift ja direkt in dem schon digerierten Extrakt-Syphilisserumgemisch die Funktion des Extraktes, mit dem Syphilisserum unter Komplementbindung zu reagieren, aufzuheben. Wenn man also die Wassermannsche Reaktion überhaupt unter dem Gesichtspunkt der Ehrlichschen Seitenkettentheorie betrachten will, so könnte es sich hierbei nur um die Zerstörung der bindenden Funktion zwischen Extrakt und Syphilisserum handeln, während ein Angriffspunkt an dem komplementophilen Apparat des Komplexes zunächst nicht anzunehmen ist.

Supponiert man allerdings eine durch Säurebildung indirekt vermittelte Extraktzerstörung, wie wir es früher diskutiert haben, so bleiben zur Erklärung des Vorganges die gleichen Gesichtspunkte maßgebend, die schon Abramow bei der Zerstörung digerierter Gemische von Antigen und Antiserum bzw. von Extrakt- und Syphilisserum durch Salzsäure und Natronlauge zur Erklärung herangezogen hatte. Danach hätte man sich auch bei der durch Cobragift bedingten Aufhebung der komplementbindenden Funktion digerierter Extrakt-Syphilisserumgemische vorzustellen, daß es infolge der durch fermentative Cobragiftwirkung entstandenen sauren Reaktion primär zu einer Spaltung des Extrakt-Syphilisserumkomplexes kommt, dem die Zerstörung der einzelnen Kom-

ponenten durch die veränderte Reaktion erst folgt. Immerhin würde auch diese Betrachtung involvieren, daß auch die Extraktserumreaktion selbst nach längerer Digestion der Gemische den Extrakt der fermentativen Einwirkung des Cobragiftes nicht zu entziehen vermag.

Zusammenfassung.

1) Digeriert man absteigende Mengen von Cobragift mit alkoholischem Herzextrakt und prüft nach einstündiger Digestion diesen Extrakt auf seine Fähigkeit, mit syphilitischem Serum und Meerschweinchenserum unter Komplementbindung zu reagieren, so erhält man bei Verwendung bestimmter Sera unregelmäßige Reihen. Es folgen nämlich aufeinander eine hämolytische Zone, die durch hämolytische Cobragiftwirkung bedingt ist, zweitens eine Zone von Hemmung der Hämolyse, die einer Inaktivierung des Komplementes durch Cobragift unter dem begünstigenden Einfluß des Menschenserums entspricht, drittens eine hämolytische Zone, die durch Aufhebung der Wassermannschen Reaktion infolge Zerstörung der komplementbindenden Extraktfunktion verursacht ist, und viertens wiederum eine Hemmungszone, in der sich der Eintritt der positiven Wassermannschen Reaktion dokumentiert. Es ist also entsprechend den Angaben von Hirschfeld und Klinger bei manchen Seren eine Zerstörung der antigenen Funktion des alkoholischen Extraktes durch Cobragift nachweisbar, die sich sicher von hämolytischen Cobragiftwirkungen differenzieren ließ.

2) Die extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes ist dadurch charakterisiert, daß sie sowohl bei 37° als auch bei 0° wirksam ist, daß sie durch halbstündiges Erwärmen im Wasserbad auf 100° nicht zerstört, daß sie durch Cholesterin in ihrer Wirkung gehemmt und durch Calciumchlorid in ihrer Wirksamkeit begünstigt wird. Die extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes verhält sich also in allen untersuchten Punkten der Lecithinasefunktion des Cobragiftes analog, so daß es am naheliegendsten sein dürfte, die beiden erwähnten Funktionen des Cobragiftes zu identifizieren und auch für die extrakt-

zerstörende Funktion des Cobragiftes die in ihm enthaltene Lecithinase verantwortlich zu machen. Ob bei der Extraktzerstörung die charakteristische Extraktfunktion direkt durch das Cobragift zerstört wird, oder ob die unter dem Einfluß der fermentativen Cobragiftwirkung gebildeten freien Fettsäuren erst ihrerseits eine Zerstörung der charakteristischen Extraktbestandteile bewirken, bzw. durch die Veränderung der Reaktion lediglich antireaktiv den Mechanismus der Komplexbindung hemmen, konnte experimentell nicht entschieden werden. Denn Versuche, um durch Veränderung der Reaktion die extraktzerstörende Wirkung des Cobragiftes aufzuheben, ergaben vorläufig keine eindeutig verwertbaren Resultate, wenn es auch schien, daß der Zusatz von Alkali die Extraktzerstörung nicht in nennenswertem Grade zu beeinflussen vermochte.

3) Es gelingt nur unter ganz bestimmten Versuchsbedingungen, eine Aufhebung der Extraktfunktion unter dem Einfluß des Cobragiftes nachzuweisen. Dagegen tritt in einer großen Anzahl von Versuchen unter Verwendung verschiedener alkoholischer Herzextrakte bzw. verschiedener syphilitischen Sera keinerlei Abschwächung oder Aufhebung der Extraktfunktion ein. Es ergab sich nun, daß für das Versuchsergebnis, d. h. für das Eintreten oder Ausbleiben einer Extraktzerstörung zwei Momente maßgebend sind, nämlich

I. die biochemische Eigenart des Extraktes insofern, als einmal verschiedene geprüfte Extrakte sich verschieden stark zerstörbar erwiesen und als andererseits der gleiche Extrakt durch Aenderung des Mischungsverhältnisses der Lipoiden sich in seiner Empfindlichkeit gegenüber der Cobragiftzerstörung variieren ließ;

II. die Eigenart der geprüften syphilitischen Sera insofern, als verschiedene gleich stark positiv reagierende Sera bei Prüfung gegenüber dem gleichen mit Cobragift behandelten Extrakt eine anscheinend ganz verschieden starke Zerstörbarkeit des Extraktes zur Erscheinung brachten. Da in diesem Fall die Zerstörbarkeit des Extraktes bei Ansetzung paralleler Reihen natürlich immer die gleiche hätte sein müssen, in Wirklichkeit aber bei Anwendung verschiedener

Sera eine Extraktzerstörung bei jedem Serum in ganz verschiedenem Grade nachweisbar ist, so ergibt sich mit Notwendigkeit, daß auch die Eigenart der verwandten Sera für den Nachweis der Extraktzerstörung von ausschlaggebender Bedeutung sein muß.

Zur Erklärung wird angenommen, daß es sich bei diesen Verschiedenheiten in der Reaktionsweise der Sera wahrscheinlich um Unterschiede der Reaktionsaktivität der Sera handelt, die vielleicht im Sinne von Aviditätsdifferenzen der die positive Reaktion vermittelnden Faktoren aufzufassen sind. Man könnte sich dann vorstellen, daß der Zerstörung durch das Cobragift entgangene Extraktbestandteile bei Seren mit großer Avidität noch eine Komplementbindung zu vermitteln vermögen, wodurch die eingetretene Extraktzerstörung verschleiert wird, während bei Seren mit geringerer Avidität die der Zerstörung entgangenen Extraktreste nicht das Vermögen besitzen, zu einer nachweisbaren Komplementbindung zu führen. Jedoch könnten auch biochemische Differenzen zwischen den einzelnen Seren (Verschiedenheiten des Lipoidgehaltes bzw. des gegenseitigen quantitativen Verhältnisses von Cholesterin zu anderen Lipoiden, verschiedener Calciumchloridgehalt) für den Versuchsausfall von Bedeutung sein.

4) Mischt man direkt absteigende Mengen Cobragift mit Extrakt, syphilitischem Serum und Meerschweinchenserum und setzt nach einstündiger Digestion der Gemische das hämolytische System zu, wobei also die Komplementbindungsreaktion mit der Extraktzerstörung in Konkurrenz tritt, so hängt es von der Eigenart der im Versuch verwandten Sera ab, welcher von beiden Vorgängen überwiegt. Bei Seren mit großer Reaktionsfähigkeit bzw. Avidität tritt die Komplementbindung ein, bevor das Cobragift seine fermentative Funktion entfalten konnte, so daß eine Extraktzerstörung nicht nachweisbar wird. Umgekehrt tritt bei Seren von schwacher Avidität eine Extraktzerstörung durch das Cobragift ein, da bei solchen Seren das Cobragift seine Wirksamkeit entfalten kann, bevor es zur Komplementbindung gekommen ist. Bei manchen Seren zeigte es sich sogar, daß der gleichzeitige Serumzusatz

geradezu begünstigend auf die Zerstörung des Extraktes durch Cobragift einwirkte.

5) Wurden Gemische von Extrakt mit syphilitischem Serum eine Stunde lang vor dem Cobragiftzusatz digeriert und erst hierauf durch Zusatz von Meerschweinchenserum die Komplementbindungsfähigkeit der Gemische geprüft, so ergab sich, daß auch unter diesen Bedingungen eine Extraktzerstörung in gleicher Weise wie bei direkter Mischung der drei Komponenten ohne vorherige Digestion eintritt. Die Digestion des Extraktes mit dem Serum vor dem Cobragiftzusatz vermag also nicht den Extrakt vor der Zerstörung zu schützen.

6) Wurden Gemische von Extrakt, Luesserum und Meerschweinchenserum nach einstündiger Digestion, d. h. nach abgeschlossener Komplementbindung, der Einwirkung des Cobragiftes unterworfen, so war keine Restitution der Komplementfunktion nachweisbar.

Nachdruck verboten.

[Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitales in Wien.]

**Quantitative Untersuchungen über die Einwirkung
von Komplement auf Präzipitate.**

Ausgeführt mit Unterstützung der Fürstlich Liechtensteinschen Spende.

Von **Hans Lampl** und **Karl Landsteiner**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Juli 1916.)

In der Immunitätsliteratur der letzten Jahre wird häufig eine hypothetische Eigenschaft der Komplemente erörtert, die darin bestehen soll, daß Komplement mit Hilfe entsprechender normaler oder Immunantikörper die als Antigen verwendeten Eiweißstoffe nach Art verdauender Fermente zu spalten vermag. Die Cytolyse durch Immunkörper, die Entstehung von giftigen Substanzen bei Anaphylaxie (Friedberger), das Auftreten der Abderhaldenschen Serumreaktion werden oft in dieser Weise erklärt.

Die Hypothese blieb allerdings nicht ganz unbestritten¹⁾ [Ritz und Sachs, Doerr, Jobling und Petersen²⁾ u. A.]. Eine ihrer wichtigsten Stützen besteht in der Angabe, daß beim Zusammenbringen des aktiven Serums immunisierter Tiere mit dem homologen Antigen nach Enteiweißung des Gemisches Stoffe mit Biuretreaktion aufgefunden werden [Pfeiffer und Mita³⁾, Friedberger und Mita⁴⁾]. Die Deutung dieser Befunde ist aber, auch wenn man von den gegen ihre allgemeine Gültigkeit geäußerten Bedenken absieht, dadurch zweifelhaft, daß das Auftreten von Eiweißspaltprodukten (und Anaphylatoxin) auch dann beobachtet wurde, wenn man Meerschweinchenserum mit einem sehr stickstoffarmen Pro-

1) Vgl. Doerr, Allergie und Anaphylaxie, im Handbuch von Kolle-Wassermann, 2. Aufl., 1913, p. 1030 u. ff.

2) Journ. exper. Med., Vol. 20, 1914, p. 321.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910.

4) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911.

dukt, nämlich aus Agar hergestelltem Pararabin zusammenbrachte. Bordet und Zunz ¹⁾, die diese Beobachtung machten, schließen daraus, daß die auftretenden Spaltprodukte den Eiweißstoffen des Serums selbst entstammen.

Bei dieser Sachlage war es angezeigt, sich davon zu überzeugen, ob spezifische Präzipitate durch komplementhaltiges Serum wirklich verdaut werden, und wir versuchten diese Frage durch Gewichtsbestimmung der Präzipitate vor und nach der Behandlung mit aktivem Serum zu entscheiden. Es wurde dabei die durch verschiedene Tatsachen ²⁾ gerechtfertigte Voraussetzung gemacht, daß spezifische Präzipitate zwar zum größten Teile aus Antikörpern, zum kleineren Teile aber auch aus Antigen bestehen. Die Ausführbarkeit der beabsichtigten Gewichtsbestimmungen konnte schon nach den Arbeiten von Franceschelli ³⁾ und Welsh und Chapman ⁴⁾ vermutet werden ⁴⁾. Unsere Ergebnisse zeigten wirklich, daß sich Präzipitate wegen ihrer geringen Löslichkeit und voluminösen Beschaffenheit recht gut auch zu genauen Bestimmungen eignen, so daß sie, wenn die Methodik genügend ausgebildet wird, in dieser Beziehung vielleicht nicht hinter den sonst für Gewichtsanalysen benützten Substanzen zurückstehen werden.

Es ist nötig, das benützte Verfahren in den Einzelheiten zu beschreiben.

Gut wirksame, einige Tage bis Wochen im Kühlschrank aufbewahrte, von Kaninchen stammende Pferdepräzipitinseren wurden mit verdünntem

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 23, 1914, p. 42, 49. Vgl. Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 23, p. 204; Sachs und Nathan, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25; Löwit und Bayer, Arch. f. exper. Pathol., Bd. 74, 1913, p. 164.

2) v. Dungern, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903, p. 355; Müller, Arch. f. Hyg., Bd. 44, 1902, p. 126. Vgl. Franceschelli (Arch. f. Hyg., Bd. 69, p. 207) und die bei Landsteiner und Prášek (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911, p. 68) und Welsh und Chapman (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911, p. 517) angeführte Literatur.

3) l. c.

4) Wir selbst haben uns schon bei anderer Gelegenheit in Gemeinschaft mit E. Prášek von der Verwendbarkeit von Gewichtsbestimmungen für immunchemische Untersuchungen überzeugt, da es, wie wir fanden, wahrscheinlich möglich ist, in dieser Weise das Gewicht von Bakterien aufgenommener Agglutinine zu ermitteln.

Pferdeserum zusammengebracht, der reichliche Niederschlag abzentrifugiert, mehrmals mit 1-proz. NaCl-Lösung auf der Zentrifuge gewaschen und in einigen Kubikzentimetern NaCl-Lösung durch Schütteln gut verteilt. Da es auf die exakte Abmessung der Präzipitaten vor allem ankam, konnten wir uns nicht mit der volumetrischen Bestimmung begnügen. Es wurden deshalb nach unmittelbar vorhergehendem Schütteln Portionen der Emulsion mit der gleichen 1 ccm fassenden in 100 Teile geteilten Pipette abgemessen (Vermeidung von Luftbläschen), in gewogene, nicht zu dicke, unten spitzig zulaufende, verschließbare Zentrifugierröhrchen, die zur weiteren Behandlung dienten, gebracht und das Gewicht der Flüssigkeit auf der analytischen Wage bestimmt. Die volumetrische Messung wurde auf Grund dieser Wägung korrigiert. Der beim Abmessen mit der Pipette gemachte Fehler betrug bis zu 2,5 Proz. der Gesamtmenge.

In die einzelnen Röhrchen kam dann frisches aktives oder durch halbstündiges Erhitzen auf 55° inaktiviertes, verdünntes oder unverdünntes Meerschweinchen- oder Kaninchenserum, bzw. 1-proz. NaCl-Lösung. Eine Probe der Präzipitataufschwemmung wurde zur direkten Gewichtsbestimmung in einen Platintiegel gebracht (als Kontrolle bezeichnet). Nun wurde der Niederschlag in den Röhrchen durch Umrühren mit einem aus einer zugeschmolzenen Kapillarröhre hergestellten, sehr dünnen Glasstäbchen in der Flüssigkeit gut verteilt, die Röhrchen gleichzeitig zur Digestion in den Brutofen gebracht und noch ein und das andere Mal während der Digestion durchgemischt. Nach Beendigung der Digestion wurden die Proben über Nacht im Eiskasten aufbewahrt, dann die immer verschlossenen Röhrchen (mit Stanniol überzogener Kork) bis zur vollen Klärung der überstehenden Flüssigkeit abzentrifugiert und diese mit einer Kugelpipette abgesaugt, die in eine am Ende abgebogene Kapillare auslief und mit einem Schlauch armiert war. Ein ganz kleiner Rest der Flüssigkeit konnte dann mit einer geraden Kapillarpipette fast vollständig, ohne den Niederschlag aufzuwirbeln, abgesaugt werden. Dann wurde Waschflüssigkeit (NaCl-Lösung) aufgegossen und die durch das Zentrifugieren zusammengedrückten Niederschläge durch genügend langes Rühren und Reiben mit dem Glasstäbchen wieder gut verteilt. Die Menge der Waschflüssigkeit und die Zahl der Waschungen wurde so bemessen, daß nach einer bei jedem Versuch gemachten Berechnung der feste Rückstand der in dem Niederschlag enthaltenen Flüssigkeit nicht mehr wägbare sein konnte. Das Zentrifugieren wurde auch bei den Waschungen so lange fortgesetzt, bis die Flüssigkeit klar wurde oder nur schwach opalisierte. Gewöhnlich genügte dazu eine 20 Minuten lange Dauer des Ausschleuderns auf einer kleinen elektrischen Zentrifuge für jede einzelne Waschung. Nach dem letzten Zentrifugieren wurde die Flüssigkeit wieder abgesaugt und der Niederschlag in gewogene Platintiegel gebracht. Zu diesem Zweck wurden die Röhrchen am Rande etwas eingefettet und der Niederschlag, wie bei einer quantitativen Analyse, mit Hilfe des Glasstäbchens übergespült und mehrmals mit Wasser nachgewaschen. (Zur Waschflüssigkeit kommt 1 ccm NaCl-Lösung entsprechend der Kontrolle.) Die Flüssigkeit wurde nun durch Einstellen der Tiegel in

einen Trockenschrank bei 90—100° verdampft und die Tiegel bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. So wurde das Gewicht des Niederschlages samt Asche, dann durch Veraschen bei mäßiger Hitze das Gewicht der Asche bestimmt; die Differenz beider Zahlen ist unten als Gewicht des Niederschlages angegeben. Zur Wägung diente eine Wage, die bei der Belastung 0,1 mg sehr deutlich anzeigte.

Die Versuchsergebnisse waren folgende.

1. Versuch.

Präzipitinserum (Kaninchen) No. 60, abgenommen nach einer Injektion von 2,5 ccm Pferdeserum intravenös.

20 ccm des Serums + 50 ccm $\frac{1}{400}$ normales Pferdeserum, 1 Stunde Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten. Niederschlag nach dem Waschen in 5 ccm 1-proz. NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Digestion der Proben 1 Stunde bei 37°. 3mal mit je 3 ccm NaCl-Lösung gewaschen.

	Gewicht des Niederschlages
1) 1 ccm Präzipitat + 8 ccm $\frac{1}{4}$ akt. Meerschweinchenserum	0,0104
2) 1 „ „ + 8 „ $\frac{1}{4}$ inakt. „	0,0103
3) 1 „ „ + 8 „ NaCl-Lösung	0,0102
4) Kontrolle	0,0102

2. Versuch.

Pferdepräzipitin No. 65 nach 2 Injektionen.

25 ccm Immunserum + 50 ccm $\frac{1}{200}$ Pferdeserum, 2 Stunden Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten. Zum Abguß nochmals das halbe Volumen $\frac{1}{100}$ Pferdeserum, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, Niederschläge vereinigt. Digestion der Proben 2 Stunden bei 37°. 3mal mit 5, 4, 3 ccm NaCl-Lösung gewaschen.

	Gewicht des Niederschlages
1) 1 ccm Präzipitat + 8 ccm $\frac{1}{2}$ akt. Meerschweinchenserum	0,0161
2) 1 „ „ + 8 „ $\frac{1}{2}$ inakt. „	0,0158
3) 1 „ „ + 8 „ NaCl-Lösung	0,0158
4) Kontrolle	0,0173

3. Versuch.

Pferdepräzipitin No. 39 nach 3 Injektionen.

25 ccm Immunserum + 50 ccm $\frac{1}{600}$ Pferdeserum. 2 Stunden bei 37°. Digestion der Proben 4 Stunden bei 37°. 3mal mit je 3, 1mal mit 2 ccm NaCl-Lösung gewaschen.

	Gewicht des Niederschlages
1) 1 ccm Präzipitat + 6 ccm unverdünntes akt. Meersch.-Ser.	0,0100
2) 1 „ „ + 6 „ inakt. „	0,0091
3) 1 „ „ + 6 „ NaCl-Lösung	0,0097

4. Versuch.

Pferdepräzipitin No. 7. Nach 5 Injektionen frisch entnommenes Serum 30 Minuten auf 56° erhitzt.

25 ccm Immunserum + 50 ccm $\frac{1}{200}$ Pferdeserum. 1 Stunde bei 37°. Zum Abguß noch 0,2 ccm Pferdeserum, Niederschläge vereinigt. Auf ein Volumen von 8 ccm gebracht. Präzipitat grobflockig. Digestion der Proben 4 Stunden bei 37°. Gewaschen 4mal mit 4, 3, 3, 5 ccm NaCl-Lösung.

		Gewicht des Niederschlages
1)	1 ccm Präzipitat + 3,5 ccm unverdünntes akt. Meerschw.-Ser.	0,0086
2)	1 „ „ + 3,5 „ „ inakt. „	0,0080
3)	2 „ „ + 1,0 „ „ akt. „	0,0079 ¹⁾
4)	Kontrolle	0,0081

5. Versuch.

Pferdepräzipitat No. 64 nach 3 Injektionen.

25 ccm Immunserum + 70 ccm $\frac{1}{200}$ Pferdeserum, zum Abguß noch 0,2 ccm Pferdeserum, Niederschläge vereinigt, auf 8 ccm gebracht. Digestion der Proben 4 Stunden bei 37°. Gewaschen mit 3,5, 3,5, 3 ccm NaCl-Lösung.

		Gewicht des Niederschlages
1)	2 ccm Präzipitat + 1 ccm unverdünntes akt. Meerschw.-Ser.	0,0207
2)	2 „ „ + 1 „ „ inakt. „	0,0209
3)	1 „ „ + 3 „ „ akt. Kaninchenser.	0,0254 ²⁾
4)	Kontrolle (2 ccm)	0,0229

In den mitgeteilten Versuchen wurden die Mischungsverhältnisse, die Konzentration des Komplements von $\frac{1}{4}$ Verdünnung bis zu voller Konzentration, endlich die Zeit der Einwirkung im Brutofen variiert. Wenn man die einzelnen Versuche durchgeht, so ergibt der erste Unterschiede von nur 1—2 Einheiten der 4. Dezimalstelle, die offenbar noch in den Bereich der Wägungsfehler fallen; die Probe mit aktivem Komplement ergibt die größte Zahl. Im 2. Versuch hat die direkt gewogene Kontrolle das größte Gewicht, was entweder durch einen Versuchsfehler zu erklären ist oder vielleicht dadurch, daß von manchen Präzipitaten beim Waschen ein Teil in Lösung gehen oder in sehr feiner Suspension bleiben könnte. Von den übrigen Proben ist wieder die mit aktivem

- 1) Auf 1 ccm Präzipitat berechnet.
- 2) Auf 2 ccm Präzipitat berechnet.

Komplement ein wenig schwerer als die anderen, und ähnlich ist das Ergebnis im 3. Versuch. Beim 4. Versuch ist bei Verwendung von viel Komplement wieder eine Zunahme des Gewichtes zu bemerken, ebenso im 5. Versuch in der Probe mit Kaninchenkomplement, während die Probe mit geringem Komplementzusatz im 4. Versuch eine sehr geringe Verminderung des Gewichtes gegenüber der Kontrolle, im 5. Versuch eine bedeutende Abnahme zeigt. Hier ist aber eine Abnahme auch bei der Probe mit inaktivem Komplement eingetreten, und die Differenz zwischen aktiver und inaktiver Probe beträgt nur 0,2 mg, also eine in die Fehlergrenzen fallende Größe. Für den Verlust gegenüber der Kontrolle mag auch hier die beim 2. Versuche gemachte Bemerkung gelten. Was die mehrmals beobachtete, aber nur ein- oder zweimal beträchtliche Zunahme der aktiven Komplementprobe anbelangt, so wäre an eine Adsorption von Stoffen aus dem aktiven Serum zu denken, wobei es noch offen bleibt, ob die Adsorption die als Komplement wirkende Substanz selbst betrifft.

Zusammenfassung.

Es wurden in mehreren Versuchen Proben von spezifischen Präzipitaten direkt oder nach vorhergehender Behandlung mit aktivem oder inaktivem Serum gewogen. Ein Anhaltspunkt für eine verdauende Wirkung des Komplements wurde nicht gefunden (vgl. Jobling und Petersen). Die Differenz der Gewichte der mit aktivem und inaktivem Serum behandelten Proben lag, im Falle die aktive Probe leichter war, innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler und betrug nur ungefähr 1 Proz. vom Gesamtgewichte des Niederschlages.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.
(Direktor: Professor Dr. M. Hahn).]

Ueber das Verhalten der Immunkörper bei täglich wiederholter Blutentziehung.

Von **Martin Hahn** und **Hans Langer**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Juli 1916.)

Der Wunsch, über die Bildungsstätte der Antikörper Näheres zu erfahren, hatte schon frühzeitig angeregt, durch unspezifische Reize von möglichst elektiver Organwirkung auf den immunisierten Körper einzuwirken, um den Verlauf der Antikörperproduktion unter dem Einfluß der vermehrten Tätigkeit einzelner Organe kennen zu lernen. Die Versuche von Pfeiffer und Marx hatten es wahrscheinlich gemacht, daß die Antikörperproduktion in den blutbildenden Organen vor sich gehe, und so wurden auch hier zuerst derartige Reizversuche gemacht. Die gegebene Form, um die blutbereitenden Organe zu einer gesteigerten Produktion anzuregen, ist der Aderlaß, von dem wir ja wissen, daß er zu einer erheblichen Reizung des Knochenmarks als der Bildungsstätte der roten Blutkörperchen führt, auf die entsprechend der Weigertschen Regel meist mit einer Ueberkompensation der entzogenen Blutkörperchen geantwortet wird. Friedberger konnte, wie Pfeiffer mitteilte, nach Aderlassen eine Steigerung der Choleraimmunkörper feststellen. In einer größeren Arbeit berichteten dann Friedberger und Dörner (2) über Versuche, bei denen Kaninchen 10—20 ccm Blut entzogen wurden, denen teils vor teils nach der Blutentnahme Hammelblutkörperchen eingespritzt wurden. Sie schließen aus ihren Versuchen, daß Steigerungen bis zum 4-fachen Titerwert vorkämen und daß der Einfluß des Aderlasses stärker ist, wenn derselbe nach der Vaccinierung vorgenommen wird. Rothberger (3) weist aber wohl mit Recht darauf hin, daß die Protokolle von Friedberger nicht ganz eindeutig und die Annahme der Titersteigerung etwas willkürlich

herausgerechnet ist. Auch Forssmann erhebt den Einwand gegen die Versuche von Friedberger, daß der mit den verwendeten minimalen Blutmengen erzielte Titer des Ambozeptors innerhalb der Variationsbreite der normalen Hämolyse liegt; daher könnten die Titersteigerungen immerhin auch von anderen Einflüssen abhängig gewesen sein. Rothbergers Versuche zeigten, daß der Aderlaß nicht zu einer Steigerung der Agglutininbildung führt, zum Teil kommt es direkt zu einem Antikörperabfall. Er kommt zu dem Schluß, daß die nach dem Aderlaß eintretende erhöhte Tätigkeit der blutbildenden Organe wohl keinen Einfluß auf die Agglutininbildung ausübt, jedoch keinesfalls eine Steigerung durch den Blutverlust erfährt. Rostoski (4) sah nach einem bis zu Krämpfen fortgesetzten Aderlaß starken definitiven Verlust an Präzipitin eintreten. In Uebereinstimmung hiermit stehen die Versuche von Lüdke (5) an Hämolyse, bei denen durch größere Aderlässe, die in 3- bis 4-tägigen Abständen einige Male wiederholt wurden, keine Veränderung in der Immunkörpermenge eintrat. Selbst wenn solche Blutentziehungen 6 Tage fortgesetzt wurden, ergaben sich keine Aenderungen; wurden noch größere Blutentziehungen angeschlossen, so sank schließlich der Titer. Ebenso wenig wie die Hämolyse verändert der Aderlaß die Hämagglutinine. Wenn Roux und Vaillard (6) fanden, daß bei einem Pferd, dem sein gesamtes antitoxinhaltiges Blut in Intervallen entzogen war, im neugebildeten Blut das Antitoxin wieder enthalten war, daß ferner bei Kaninchen sich Tetanusantitoxin nach wiederholten Aderlässen regenerierte, so widersprachen dem Salomonsen und Madsen (7), die eine derartige Restitution bei diphtherie-immunisierten Tieren nicht bestätigen konnten; sie fanden, daß der Antitoxinabfall beim Pferd so stark war, daß er nicht durch Verdünnung, sondern nur als Folge der Anämie betrachtet werden kann.

Hingegen fand Schröder, daß in der Phase der Senkung der Antikörperkurve der Aderlaß als vorübergehender Reiz auf die Antikörperbildung wirken kann. Dem entspricht eine klinische Beobachtung von Lenz, nach der bei Typhuskranken, bei denen die Agglutinationsreaktion negativ war.

diese im Anschluß an Blutungen positiv wurde. Ueberblickt man diese Uebersicht, so sieht man, daß die Resultate keineswegs übereinstimmen. Je nach der Art der geprüften Antikörper variieren die Resultate, und selbst für die einzelnen Antikörpergruppen ergibt sich aus den Versuchen kein einheitliches Bild. Während ein Teil der Untersucher ein Absinken konstatiert, finden andere die Restitution von Verlusten, und schließlich bestehen Beobachtungen, aus denen hervorzugehen scheint, daß der Blutverlust direkt einen Reiz zur gesteigerten Antikörperproduktion darstellt. Ein Teil der Angaben ist dadurch unzuverlässig, daß das Immunisierungsstadium, in das die Aderlässe fallen, nicht genügend berücksichtigt ist. Für die Feststellung einer Steigerung sind natürlich nur solche Versuche verwertbar, bei denen die Immunisierung bereits zu konstanten Antikörperwerten geführt hat, oder aber Versuche in der absteigenden Antikörperkurve.

Die Differenz in den Resultaten dürfte ferner darauf zurückzuführen sein, daß das Wirksame an den Aderlässen, nämlich die Größe derselben bei den verschiedenen Versuchen, recht willkürlich festgesetzt wurde. Nun ist es ja allgemein bekannt, daß ein kleiner Aderlaß durchaus nicht so anregend auf die blutbereitenden Organe wirkt wie ein großer; während der erstere wohl zum Ersatz der verloren gegangenen Blutkörperchen führt, kommt es nach großen Aderlässen in der Regel zu einer Ueberproduktion. Bei allen Untersuchern ist vorausgesetzt, daß der Schwellenwert des Reizes zur Antikörperproduktion eben dort liegen müsse, wo er für die Neubildung der Blutkörperchen liegt. Um daher den Einfluß der Blutentziehung und damit der Antikörperverringering einwandfrei festzustellen, genügt es nicht, einen oder wenige Aderlässe vorzunehmen, sondern es mußten stärkere Reize gesetzt werden, wie sie etwa eine durch ununterbrochene Aderlässe erhaltene Anämie darstellte. Derartig wiederholte Aderlässe führen, wie dies erst neuerdings Sakai (8) an ausgedehnten Versuchsreihen dargelegt hat, zu einer erheblichen Aenderung des Blutes im Sinne einer Lipämie. Das Auftreten derselben wird durch fettreiche Nahrung (z. B. Milch) wesentlich gefördert (Sakai). Bei

höheren Graden erscheint das Blutserum ausgesprochen milchig. Es handelt sich also hier um eine sinnfällige, auch chemisch faßbare Veränderung des Blutserums, die mit dem starken Reizzustand in den blutbildenden Organen zusammenfällt.

Es erschien unter solchen Umständen von Interesse, gerade nach dieser Art von Blutentziehung und bei einer so erzeugten Anämie bzw. einer durch Milchfütterung noch verstärkten Lipämie das Verhalten der Immunkörper zu untersuchen. Bei unseren Versuchen zeigte sich indessen, wie vorweg bemerkt sei, daß die sinnfällige Lipämie als solche keinen erkennbaren Einfluß auf den Antikörpergehalt des Blutes hat. Hingegen ergaben sich für den Einfluß der Anämie eindeutige und in quantitativer Beziehung recht überraschende Resultate. Während dieser Versuche, die Anfang 1914 abgeschlossen vorlagen, erschien eine Arbeit von Lüdke und Körper (9), die ebenfalls den Einfluß der Anämie auf die Antikörperproduktion untersuchten. Sie erzeugten einmal toxische Anämien durch Pyridin und fanden hier eine Erhöhung des Agglutinationstiters etwa um das Dreifache, während allerdings Malnikowo und Wersilowa (10) durch Hydroxylamin und Phenylhydrazin ein Sinken der Agglutininmenge erhalten hatten. Lüdke und Körper konnten durch sekundäre Anämien, die sie durch fortgesetzte Aderlässe herbeiführten, keine Veränderung des Hämolysintiters erhalten; sie behaupten dasselbe für Agglutinine, allerdings, ohne daß Protokolle angeführt werden. Sie folgern aus ihren Versuchen, deren Beurteilung durch das Fehlen der Einzelheiten erschwert ist, daß ein Unterschied zwischen der toxischen und der sekundären Anämie besteht, indem nur die erstere zu einer Steigerung der Antikörperproduktion führt.

Unsere Versuche wurden sämtlich an Kaninchen angestellt. Die Tiere wurden erst dann mit Aderlässen behandelt, wenn die Prüfung des betreffenden Immuntiters konstante Werte ergab, wenn also keine Steigerung des Titers mehr zu erwarten war, d. h. im abfallenden Teil der Antikörperkurve. Die Aderlässe wurden täglich vorgenommen, und zwar wurden, abgesehen vom ersten orientierenden Versuch,

bei dem nur 15 ccm entnommen wurden, regelmäßig 20 ccm Blut aus der Ohrvene entzogen. Die Fütterungsweise während der Versuche war zum Teil die normale, zum Teil Milchfütterung. Die Versuche wurden zum Teil durch den Tod der Tiere beendet, bei einem anderen Teil ließen sie sich aber so lange durchführen, wie es für die Ergebnisse wünschenswert war. Versuche, bei denen die Tiere bei der Sektion Erkrankungen zeigten, wurden ausgeschaltet.

Spezifische Immunkörper.

I. Agglutinine, Präzipitine, Hämolyse.

Von Dr. Hans Langer.

Zur Erzeugung der Agglutinine wurden Typhus- und Paratyphusbacillen, die bei 60° abgetötet waren, sowie lebende Dysenteriebacillen benutzt. Die Agglutination wurde in Blockschälchen angestellt, die Ablesung des Resultats erfolgte bei Typhus und Paratyphus nach 2 Stunden, bei Dysenterie nach 3 Stunden.

Versuch 1 (Vorversuch).

Kaninchen 100: Immunisierung mit bei 60° abgetöteten Typhusbacillen, und zwar am 8. II. 1913 $\frac{1}{10}$ Oese, am 17. II. $\frac{1}{10}$ Oese, am 24. II. $\frac{1}{5}$ Oese, am 3. III. $\frac{1}{5}$ Oese.

18. III. Titer: 3200	3. IV. Titer: 12 800. Weger starker Schwäche keine Blutentnahme.
25. III. „ 800	4. IV. Titer: 3 200. Keine Blutabnahme.
26. III. „ 800	7. IV. Titer: 3 200. Erneute Blutabnahme.
27. III. „ 800. Von diesem Tage an wurden täglich 15 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen.	9. IV. Titer: 25 600. Erneute Blutabnahme.
28. III. Titer: 1600	11. IV. Titer: 51 600. Erneute Blutabnahme.
29. III. „ 1600	12. IV. tot. Sektion ergibt keinen Befund.
30. III. „ 6400	
31. III. „ 3200	
1. IV. „ 3200	
2. IV. „ 6400	

Es ist also der Titer nach etwa 10 Blutentziehungen um das 64-fache gestiegen. Das Tier zeigte sehr bald nach den ersten Entziehungen große Schwäche, die Kurve verläuft etwas unregelmäßig und konnte nicht in wünschenswerter Länge durchgeführt werden.

Versuch 2.

Kaninchen 75. Vorbehandlung: 4-malige Injektion steigender Mengen abgetöteter Typhusbacillen in 8-tägigem Abstand. Letzte Injektion am 1. V.

12. V. Titer:	12 800	23. V. Titer:	102 400
15. V. „	12 800	24. V. „	102 400
16. V. „	12 800	26. V. „	204 800
18. V. „	12 800	27. V. „	409 600
Am 19. V. wurde mit täglichen Blut-		28. V. „	3 200 000. Das Serum
abnahmen von 20 ccm Blut be-			ist sichtbar lipämisch.
gonnen.		29. V. Titer:	6 400 000
19. V. Titer:	12 800	31. V. „	3 200 000
20. V. „	25 600	3. VI. „	6 400 000
21. V. „	51 200		

In diesem Versuche erreicht die Titersteigerung nach 9 Blutentziehungen das 500-fache des ursprünglichen Wertes. Das hochwertige Serum vom 29. V. wurde im Eisschrank aufbewahrt und wies noch am 20. VI., also nach mehr als 3 Wochen, den gleichen Titer auf. Ferner wurde die Mitagglutination des hochwertigen Serums für Paratyphus B und Coli geprüft; beide Agglutinationen waren negativ. Es handelt sich also um eine tatsächliche Vermehrung der spezifischen Antikörper. Am 3. VI. wurden die Blutentziehungen unterbrochen, um den weiteren Verlauf der Antikörperkurve nach einer derartigen Ueberschwemmung des Serums mit Agglutinen zu übersehen.

4. VI. Titer:	6 400 000	9. VI. Titer:	25 600
5. VI. „	204 800	11. VI. „	25 600
6. VI. „	25 600		

Es tritt also innerhalb weniger Tage nach der Unterbrechung der Blutentziehung ein Absinken des hohen Titer ein bis auf den durch die Immunisierung erreichten Anfangstiter, dessen Höhe dann eingehalten wird.

Versuch 3.

Kaninchen 2. Vorbehandlung: 3-malige Injektion abgetöteter Paratyphusbacillen. Letzte Injektion am 1. VII. Um den Einfluß der Milchfütterung kennen zu lernen, durch die die Lipämie verstärkt wird, wurde dem Kaninchen Milch gegeben.

25. VII. Titer:	640	8. VIII. Titer:	2 000 000
28. VII. „	640	9. VIII. „	16 000 000. Sicht-
31. VII. „	640		bare Lipämie.
4. VIII. Beginn der täglichen Blut-		11. VIII. Titer:	16 000 000
entziehungen von 20 ccm.		13. VIII. „	24 000 000
5. VIII. Titer:	3 200	14. VIII. „	51 000 000
6. VIII. „	51 200	18. VIII. „	51 000 000
7. VIII. „	1 000 000	21. VIII. „	128 000 000

Das Tier ist sehr schwach und blutet fast gar nicht mehr, daher wird der Versuch unterbrochen.

Am 6. X. und den folgenden Tagen beträgt der Titer 800. Er hat sich also wieder auf den Anfangswert eingestellt.

In diesem Versuche erreicht also die Titersteigerung nach 17 Blutentziehungen den enormen Wert des 250 000-fachen.

Versuch 4.

Kaninchen 5. Vorbehandlung: 3-malige Injektion lebender Dysenteriebacillen (Flexner). Letzte Injektion 16. VII. 1913.

14. VIII. Titer:	640	21. VIII. Titer:	1 600
15. VIII. "	640	22. VIII. "	409 000
17. VIII. "	640	23. VIII. "	409 000
19. VIII. "	640. Beginn der	24. VIII. "	800 000
täglich	Blutentziehungen von	28. VIII. "	800 000
20 ccm Blut.		29. VIII. tot.	Sektion ohne Befund.

Die Versuche ergeben, daß durch die regelmäßigen Aderlässe eine Titersteigerung der Agglutinine erzielt wird, die eine außerordentlich beträchtliche Höhe erreicht, wie sie weder durch eine spezifische Immunisierung noch durch irgendwelche andere unspezifische Einwirkungen erreicht werden kann. So dürften Sera von einem Titer von 1:128 Millionen bisher kaum beobachtet sein. Daß die Steigerung der Antikörperproduktion nach den Aderlässen in den einzelnen Versuchen verschieden und zum Teil sehr sprunghaft verläuft, dürfte sich zwanglos daraus erklären, daß die Aderlässe für die einzelnen Tiere einen verschieden starken Reiz darstellen. Es ist schon nach diesen Zahlenverhältnissen sehr wahrscheinlich, daß es sich bei der Antikörpersteigerung nicht um eine Einschwemmung bereits vorgebildeter Antikörper aus irgendwelchen Organen in das Blut handelt, sondern daß es unter dem Reiz der Blutentziehung zu einer ganz abundanten Ueberproduktion der Agglutinine kommt. Diese Ueberproduktion hält an, solange ein Reiz durch die Aderlässe ausgeübt wird. Sobald die Blutentziehungen eingestellt werden, sinkt der Titer von der erreichten Höhe wieder herab und stellt sich in verhältnismäßig kurzer Zeit auf den durch die spezifische Immunisierung erzielten Anfangswert ein, d. h. der Organismus hat überhaupt nur die Fähigkeit, einen bestimmten Antikörpergehalt festzuhalten, dessen Größe ausschließlich von der Größe des Reizes abhängt, den das Antigen auf das betreffende Indi-

viduum auszuüben vermag. Der Antikörpergehalt eines Individuums kann als eine Funktion des Antigens aufgefaßt werden. Wie es allgemein bekannt ist, daß die Ausscheidung der Antikörper bei der passiven Immunisierung so schnell vor sich geht, daß die passive Immunität keine dauernde Schutzwirkung auszuüben vermag, so zeigen diese Versuche, daß der Organismus auch nicht imstande ist, selbstproduzierte Antikörper zurückzuhalten, wenn ihre Höhe oder Konzentration nicht durch den spezifischen Reiz des eingeführten Antigens bedingt ist.

Da im allgemeinen die blutbildenden Organe als die Bildungsstätten der Agglutinine betrachtet werden, so ist die Annahme, daß der Aderlaß die Agglutininproduktion an eben jenen Bildungsstätten anregt, sehr nahegelegt. Um nun zu untersuchen, worauf dieser Reiz beruht, ob das Entscheidende die Volumenverminderung oder die Verringerung der Blutbestandteile bzw. deren Verdünnung innerhalb der Blutflüssigkeit ist (da bekanntlich der Ersatz des Volumens schneller eintritt als der der Blutkörperchen), stellte ich weitere Versuche an, bei denen unmittelbar nach der Blutentziehung das entzogene Volumen durch die entsprechende Menge einer auf Körpertemperatur erwärmten physiologischen Kochsalzlösung ersetzt wurde. Auch bei diesen Versuchen wurden die Aderlässe bzw. die Kochsalzinjektionen täglich vorgenommen und so lange fortgesetzt, als es der Zustand der Tiere und die Gebrauchsfähigkeit der Ohrvenen zur Injektion erlaubte.

Versuch 5.

Kaninchen 57. Vorbehandlung: 4-malige Injektion abgetöteter Typhusbacillen. Letzte Injektion 10. IV. 1913.

2. V. Titer:	1600	7. VI. Titer:	3200
3. VI. „	1600	12. VI. „	1600
6. VI. „	3200		

Am 14. VI. wird mit täglichen Blutentziehungen von 20 ccm Blut begonnen. Unmittelbar nach dem Aderlaß werden 20 ccm sterile Kochsalzlösung in die Vene eingespritzt.

15. VI. Titer:	3200	28. VI. Titer:	1600
16. VI. „	3200	30. VI. „	1600
19. VI. „	3200	1. VII. „	1600
20. VI. „	3200	2. VII. „	1600
23. VI. „	3200	3. VII. „	3200
24. VI. „	3200	5. VII. „	3200
25. VI. „	3200		

Verhalten d. Immunkörper bei täglich wiederholter Blutentziehung. 207

Der Versuch mußte abgebrochen werden, da die intravenösen Injektionen infolge der Lädierung der Venen nicht mehr gelingen.

Versuch 6.

Kaninchen 3. Vorbehandlung: 2-malige Injektion abgetöteter Paratyphusbacillen. Letzte Injektion 18. VII.

12. VIII.	Titer: 16 000
14. VIII.	„ 8 000
18. VIII.	„ 16 000

Am 19. VIII. Beginn der Blutentziehungen mit sofortigem Ersatz des Blutvolumens durch Kochsalzlösung.

13. VIII.	Titer: 16 000	27. VIII.	Titer: 64 000
20. VIII.	„ 32 000	28. VIII.	„ 32 000
22. VIII.	„ 32 000	29. VIII.	tot. Sektion ohne Befund.
25. VIII.	„ 64 000		

Versuch 7.

Kaninchen 7. Vorbehandlung: 2-malige Injektion lebender Dysenteriebacillen (Flexner). Letzte Injektion 18. VII.

12. VIII.	Titer: 32 000	22. VIII.	Titer: 32 000
15. VIII.	„ 16 000	24. VIII.	„ 16 000
16. VIII.	„ 16 000	25. VIII.	„ 32 000
18. VIII.	„ 16 000	26. VIII.	„ 32 000
19. VIII.	Beginn der Blutentziehungen mit Kochsalzersatz.	27. VIII.	„ 32 000
20. VIII.	Titer: 32 000	28. VIII.	tot. Sektion ohne Befund.

Diese Versuche zeigen deutlich, daß die Wirkung des Aderlasses auf die Steigerung der Antikörperbildung tatsächlich ausgeschaltet wird, wenn man Sorge trägt, daß das Blutvolumen nicht geändert wird. So sehen wir im Versuch 5 selbst nach 13 Blutentnahmen unter Volumenersatz keine Steigerung der Antikörpermenge, während bei der gleichen Zahl von Aderlässen in der ersten Versuchsreihe die Steigerungen bereits beträchtliche Höhe erreicht haben. Der Reiz zur Antikörperproduktion nach Aderlaß kann also nicht etwa mit der Verminderung der zellulären Bestandteile des Bluts, auch nicht mit dem Entziehen von Serumstoffen zusammenhängen, sondern er scheint allein durch die Volumenverminderung gegeben zu sein. Daß bisweilen kleine Steigerungen in der Antikörpermenge eintreten, erklärt sich, soweit man überhaupt nicht diese Schwankungen als innerhalb der Fehlergrenzen liegend be-

trachten will, zwanglos dadurch, daß einmal der Volumenersatz in einer für den Organismus recht groben Form geschieht, und daß ferner immerhin eine gewisse Zeit zwischen der Blutentnahme und der Kochsalzinjektion vergeht, die schon als Reiz wirken könnte.

Natürlich trat auch in dieser zweiten Versuchsreihe eine Neuproduktion von Antikörpern ein, denn sonst müßte ja entsprechend der Blutverdünnung ein Absinken des Titers erwartet werden. Diese Produktion richtet sich aber auch hier anscheinend nur nach dem Grad des Reizes, den das spezifische Antigen auf das Individuum ausübt, und ist durch die Blutentziehung nicht beeinflußt.

Es ist bekannt, daß nach Aderlassen die Volumenverminderung des Blutes verhältnismäßig schnell ausgeglichen wird. Wenn also die Volumenverminderung den Reiz für die Antikörperproduktion darstellt, so mußte dieser Reiz außerordentlich kurz wirken und außerordentlich rasch beantwortet werden. Um diese Vorstellung weiter zu stützen, wurden nun Versuche angefügt, bei denen der Aderlaß so vorgenommen wurde, daß die Menge von 20 ccm Blut nicht auf einmal entzogen wurden, sondern daß mehrmalige kleinere Blutentziehungen am gleichen Tage vorgenommen wurden, deren Gesamtmenge 20 ccm erreichte. Es war in diesen Versuchen also die Verminderung der Blutbestandteile die gleiche wie in den früheren Versuchsreihen, während man anderseits wohl annehmen darf, daß die Volumenverminderung um 6—7 ccm Blut beim einzelnen Aderlaß in der Zeit bis zur nächsten Blutentziehung wieder ausgeglichen wird. Daß eine einmalige Blutentziehung von 6—7 ccm entgegen den bisweilen in der Literatur ausgesprochenen Vermutungen keinen Einfluß auf die Steigerung der Agglutinine hat, konnte schon durch die orientierenden Vorversuche bewiesen werden.

Versuch 8.

Kaninchen 9. Vorbehandlung: 2-malige Injektion lebender Dysenteriebacillen (Flexner). Letzte Injektion am 12. VIII.

- 4. IX. Titer: 1600
- 6. IX. „ 1600
- 7. IX. „ 1600

Am 8. IX. werden 3mal täglich, und zwar um 9, um 1 und um 7 Uhr, je 6 ccm Blut entnommen. Die Prüfung des Titer wird in dem 9 Uhr-Blut angestellt.

10. IX. Titer: 1600	15. IX. Titer: 800
11. IX. „ 1600	16. IX. „ 800
13. IX. „ 1600	17. IX. „ 800
14. IX. „ 800	

Versuch 9.

Kaninchen 11. Vorbehandlung: 2-malige Injektion abgetöteter Typhus-bacillen. Letzte Injektion am 1. IX.

20. IX. Titer: 320	27. IX. Titer: 320
21. IX. „ 320	28. IX. „ 320
22. IX. „ 320	29. IX. „ 320
23. IX. „ 320	30. IX. „ 320
25. IX. Beginn der Blutentziehung, 3mal täglich 6 ccm.	1. X. „ 640
26. IX. Titer: 320	3. X. „ 320

Versuch 10.

Kaninchen 12. Vorbehandlung: 2-malige Injektion abgetöteter Typhus-bacillen. Letzte Injektion am 1. IX.

20. IX. Titer: 1600	28. IX. Titer: 3200
22. IX. „ 1600	29. IX. „ 3200
24. IX. „ 1600	30. IX. „ 3200
25. IX. Beginn der Blutentziehung, 3mal täglich 6 ccm.	2. X. „ 3200
27. IX. Titer: 1600	3. X. „ 3200

Diese Versuche zeigen tatsächlich einmal, daß die kleinen Aderlässe von etwa 6 ccm keinen Einfluß auf die Agglutininbildung haben, dann aber auch, daß bei diesen kleinen Reizen keine Summation der Reize eintritt, so daß das Niveau der Antikörperproduktion dauernd unverändert bleibt. Es geht aus dieser Versuchsreihe wiederum hervor, daß die Verminderung der Blutbestandteile nicht den Reiz darstellt, sondern daß dieser ausschließlich durch die Volumenverminderung und, wie wir jetzt sagen können, durch eine erhebliche Volumenverminderung gegeben ist.

Im Anschluß an diese Agglutininversuche wurde nun der Einfluß des Aderlasses auf die Bildung anderer Antikörper geprüft, und zwar wurden zunächst Hämolysine und Präzipitine herangezogen.

Versuch 11.

Kaninchen 35. Vorbehandlung: Hammelblutkörperchen.

Nachdem die 4-malige Prüfung des Titors den konstanten Wert von 2500 ergeben hatte, werden täglich 20 ccm Blut entzogen. In den folgenden Tagen bleibt der Hämolysintiter bei 12maliger Blutentziehung unverändert 2500.

Versuch 12.

Kaninchen 52. Vorbehandlung: Hammelblutkörperchen.

Nachdem der Titer den konstanten Wert von 5000 erreicht hat, bleibt durch 8-mal wiederholte tägliche Blutentziehung der Hämolysintiter völlig unverändert.

Versuch 13.

Kaninchen 93. Vorbehandlung: Hammelserum.

Nachdem der Titer sich auf 3200 eingestellt hat, werden täglich 20 ccm entzogen; die sich für den Präzipitingehalt ergebenden Titerwerte sind folgende: 4000, 8000, 8000, 8000, 4000, 2000, 1000.

Versuch 14.

Kaninchen 97. Vorbehandlung: Hammelserum. Konstanter Titer 8400.

Nach den täglichen Blutentziehungen verhält sich der Titer, wie folgt: 8000, 8000, 8000, 8000, 8000, 4000, 4000.

Es wurden also bei den Hämolysinen und Präzipitinen in keinem Fall Titersteigerungen erzielt, vielmehr es trat nur der Ausgleich der entzogenen Antikörpermenge bis zur Höhe des Immunisationstiters ein. Bei den Präzipitinen scheint sich sogar der Ersatz der verloren gegangenen Antikörper nicht vollständig zu vollziehen. Es unterscheiden sich also die Agglutinine in ihrer Reaktion auf den Aderlaß durchaus von den Hämolysinen und Präzipitinen.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt Klieneberger (11), der die Immunkörperbildung unter dem Einfluß der Bierschen Stauung untersuchte. Er behauptet, daß die Agglutininbildung durch Stauung angeregt wird, die Hämolysinbildung hingegen nicht. Allerdings beweisen seine Versuchsprotokolle auch den Einfluß auf die Agglutininbildung nicht einwandfrei; die von ihm angegebenen Titersteigerungen bis zu 2000 (!) sind zu geringfügig und werden auch von den nicht gestauten Kontrolltieren erreicht. Eine etwas deutlichere, wenn auch ebenfalls nicht sehr erhebliche Steigerung der Agglutininbildung erhielt Lippmann (12) durch An-

wendung des als Knochenmarkreizmittel bekannten Thorium X. Seine Versuche lassen auch deutlich erkennen, daß die Agglutininvermehrung im Blut unter dem Einfluß unspezifischer Reizmittel nur sehr kurz anhält und nach der Ausschaltung des Reizes sehr schnell wieder absinkt. Eine Vermehrung der Hämolysine findet Lippmann gleichfalls nicht. Er schließt daraus, daß die Bildungsstätte der Hämolysine nicht im Knochenmark liegt. Eine solche Schlußfolgerung aus negativen Ergebnissen ist nicht zwingend. Das Ausbleiben der Hämolysinvermehrung ist noch kein Beweis gegen die Annahme, daß deren Bildungsstätte in den Blut bildenden Organen zu suchen ist. Es ist jedenfalls vorsichtiger, nur die Feststellung zu machen, daß Knochenmarkreizmittel, wie der Aderlaß, die Hämolysinbildung nicht anregen. Es kann sehr wohl sein, daß das unterschiedliche Verhalten der Agglutinine einerseits und der Hämolysine und Präzipitine andererseits nur durch die erforderliche Reizstärke bedingt ist, daß der Reiz der Volumenverminderung durch schnellen Ausgleich zu früh erlischt, um die Hämolysinsteigerung im Blut zu bewirken, während er zur Agglutininvermehrung genügt. Damit würden sich auch zwanglos die sich widersprechenden Resultate der verschiedenen Untersucher erklären, daß in einzelnen Fällen bei besonders günstigen Versuchsbedingungen auch einmal Steigerungen anderer Antikörper erreicht wurden, zumal diese Steigerungen niemals sehr beträchtlich waren.

Zusammenfassung.

1) Täglich wiederholte große Aderlässe (von 20 ccm) führen beim Kaninchen zu einer ungeheuren Steigerung der Immunagglutinine. Es wurden Steigerungen bis zum 250 000-fachen Wert des Anfangstiters beobachtet.

2) Das Auftreten der Agglutininsteigerung kann mit dem Sichtbarwerden der lipämischen Trübung zeitlich nicht in Zusammenhang gebracht werden.

3) Der Organismus vermag die im Uebermaß produzierten Antikörper nicht dauernd zu halten, nach dem Aussetzen der Aderlässe sinkt der Agglutinationstiter sehr schnell auf

den ursprünglichen durch die Immunisation erreichten Wert zurück. Es kann danach nicht erwartet werden, daß es gelänge, durch unspezifische Reize die spezifischen Schutzstoffe des Organismus im Blute dauernd zu vermehren.

4) Die Vermehrung der Agglutinine im Blut durch Aderlaß ist eine durchaus spezifische, Mitagglutination von verwandten Bakterien wurde nicht beobachtet.

5) Der Reiz des Aderlasses auf die Agglutininvermehrung beruht auf der Volumenverminderung des Blutes; er bleibt aus, wenn diese Verminderung durch Kochsalzinjektion ausgeschaltet wird.

6) Aderlässe von etwa 6 ccm haben keinen Einfluß.

7) Eine Vermehrung von spezifischen Hämolyseinen und Präzipitinen im Blut wurde durch den Aderlaß nicht erreicht.

8) Die Größe der Blutmengen, die notwendig sind, um eine Agglutininsteigerung herbeizuführen, spricht dagegen, daß die günstige therapeutische Wirkung von verhältnismäßig kleinen Aderlässen bei Infektionskrankheiten mit einer Vermehrung der spezifischen Immunstoffe im Blut in Zusammenhang zu bringen ist.

Literatur.

- 1) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 35, 1904.
- 2) Ebenda, Bd. 38, 1905.
- 3) Ebenda, Bd. 43, 1906.
- 4) Verhandl. der Phys.-med. Gesellschaft Würzburg, 1903.
- 5) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 40.
- 6) Annales de l'Institut Pasteur, 1893.
- 7) Ebenda, 1898.
- 8) Biochem. Zeitschr., Bd. 62, 1914.
- 9) Beitr. z. Klinik d. Infektionskrankh., Bd. 1, 1913.
- 10) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 66, 1912.
- 11) Mitteil. a. d. Grenzgebieten d. Med. u. Chirurgie, Bd. 19.
- 12) Archiv f. klin. Medizin, 1914.

Nachdruck verboten.

[Aus Statens Seruminstitut Kopenhagen.]

Studien über die Ananaphylaxie ¹⁾ (Antianaphylaxie).

Von **Oluf Thomsen,**

Abteilungsvorsteher am Statens Seruminstitut.

Mit 3 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. November 1916.)

So verschieden die herrschenden Theorien in bezug auf die Pathogenese des anaphylaktischen Shocks auch sind, steht es doch fest, daß diese von den Wirkungen eines Zusammentreffens zwischen einem Antigen (im wesentlichsten einem Proteinstoff) und dessen Antistoff hervorgerufen werden. Es lassen sich a priori drei Möglichkeiten als Ursache zur Ananaphylaxie denken: 1) der Verbrauch (Destruktion) oder die Ausscheidung des Antistoffes; 2) das Hindernis für die Reaktion zwischen dem Antigen und dem Antistoff und 3) die Unempfindlichkeit resp. geringere Empfindlichkeit gegenüber dem shockhervorrufenden Faktor, dem „Gift“, oder wie man dieses Agens benennen will.

Im nachstehenden sollen diese drei Möglichkeiten jede für sich in der angeführten Reihenfolge besprochen werden.

1. Der Verbrauch (Destruktion) oder die Ausscheidung des Antistoffes.

Dies wird von den meisten Untersuchern als die wesentlichste Ursache zur Ananaphylaxie aufgefaßt, die also als eine „negative Phase“ während eines Immunisierungsprozesses angesehen wird. Einzelne Autoren [besonders Bessau¹⁾] meinen jedoch einen Anhalt dafür gefunden zu haben, daß die Ananaphylaxie von keiner „Antikörperabsorption“ herrührt, sondern auf anderen, wesentlich unspezifischen Prozessen (auf diese Untersuchungen werde ich später zurückkommen) beruht.

1) In Anbetracht des logisch Unkorrekten in der Bezeichnung Antianaphylaxie (s. später) wird in dieser Arbeit das Wort Ananaphylaxie als Synonym für Antianaphylaxie angewandt.

2) Centralbl. f. Bakt., 1911 und 1914.

Ein Forscher, der sich am meisten mit der Ananaphylaxie beschäftigt hat, ist Besredka. In einem größeren Uebersichtsartikel¹⁾, den er darüber geschrieben hat, wird folgendes angeführt: Mit überaus kleinen Mengen Proteinstoff (Serum) ist es möglich, einen „Vaccinationseffekt“ zu erreichen, ja selbst mit so kleinen Dosen, daß diese keine bemerkbaren Symptome bei den sensibilisierten Tieren hervorrufen. Die Ananaphylaxie stellt sich angeblich überaus schnell ein; so soll die subkutane Injektion einer subletalen Menge nach Verlauf von 4 Stunden Ananaphylaxie geben, die intraperitoneale (resp. intraspinal) nach 1–2 Stunden und die intravenöse (resp. intracardiale) sofort. Besredka gibt an (l. c. p 94), daß die Injektion einer Dosis — die „2–500mal unter der gefährlichen Dosis bleibt“ — in das Peritoneum gegen eine nachfolgende Injektion der sicher tödlichen Dosis schützt. Hier muß aber doch wohl ein Schreibfehler vorliegen, denn in den Zahlen, die an der betreffenden Stelle angeführt werden, ist die präventive Dosis $\frac{1}{6}$ bis $\frac{1}{12}$ der tödlichen. Auch in den anderen angeführten Beispielen liegt die präventive Dosis der tödlichen bei weitem näher, als man nach dem angeführten Zitat erwarten sollte (gewöhnlich beträgt die präventive Dosis $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{4}$ der tödlichen). Als ein einzelnes konkretes Beispiel kann nach Besredka folgendes angeführt werden: Ein sensibilisiertes Meerschweinchen hat D. l. m. = 0,05 ccm (Serum). Es erhält intravenös 0,025 ccm (also $\frac{\text{D. l. m.}}{2}$). Diese Dosis ver-

anlaßt keine Störungen (?). Nach 5 Minuten verträgt das Tier intravenös 0,1 ccm (d. h. 2mal D. l. m.), nach weiteren 2 Minuten 0,25 ccm (d. h. 5mal D. l. m.); wartet man wieder 2 Minuten, so verträgt es 1 ccm (d. h. 20mal D. l. m.). Diese Injektionen können sogar in so kurzen Zwischenräumen ausgeführt werden, daß es nicht nötig ist, zwischen den einzelnen Einspritzungen die Kanüle aus der Vene herauszuziehen. Als Konsequenz seiner Untersuchungen empfiehlt Besredka deshalb, da, wo das Serum therapeutisch bei Individuen gegeben werden soll, die möglicherweise schon durch eine vorausgegangene Seruminjektion sensibilisiert worden sind, es in refraktären Dosen zu geben, wodurch ernste Anaphylaxiefälle sicher vermieden werden können.

Andere Autoren haben eine weit geringere Wirkung der präventiven Injektion gesehen, selbst wenn das Versuchstier auf diese mit sehr heftigen Symptomen reagiert hat. Einige Untersucher wollen eine desto stärkere Wirkung nach einer präventiven Injektion gesehen haben, je heftiger die Symptome waren, die dadurch hervorgerufen wurden. Andere haben dies wieder nicht bestätigen können, so führt Doerr²⁾ in seinem vorzüglichen Sammelreferat an, daß er mehrere Male gesehen hat, wie Meerschweinchen mit sehr starken Symptomen, ja mit so starken, daß man tödlichen Ausgang erwarten konnte, reagiert haben, ohne daß das Tier deshalb bei einer

1) Weichardts Jahresber. der Immunitätsforschung, Bd. 8. 1912.

2) Allergie und Anaphylaxie. Kolle und Wassermanns Handb. der pathog. Mikroorganismen. 2. Aufl. 1913. Bd. 2, Teil 2, p. 1081.

nachfolgenden Injektion gegen einen tödlich verlaufenden Shock geschützt war.

Während die meisten sich darüber einig sind, die Ananaphylaxie als das Resultat einer ausgesprochenen spezifischen Antigen-Antistoffreaktion zu betrachten, haben besonders Bessau¹⁾ und dessen Mitarbeiter sich gegen diese Spezifität ausgesprochen.

So war die Frage über die näheren Verhältnisse der Ananaphylaxie noch unentschieden, als ich vor ca. 4 Jahren diese Untersuchungen begann. Sie ist seither wesentlich durch Beiträge von verschiedenen Seiten klargelegt worden, besonders von Friedberger und seinen Schülern. Auf diese Untersuchungen werde ich später zurückkommen. Ein Teil der Resultate, zu denen ich gelangt bin, ist in der letzten Zeit auch von anderen Untersuchern erreicht worden. Deshalb kann ich mich in diesen Punkten darauf beschränken, kurz meine Versuche hinzuzufügen, in anderen Punkten glaube ich, daß meine Versuche das vorliegende noch mangelhafte Material werden ergänzen können, so daß es möglich sein wird, zu verstehen, weswegen verschiedene Untersucher zu teilweise ganz entgegengesetzten Beantwortungen derselben Frage gelangt sind.

Eigene Versuche.

Um so genau wie möglich die verschiedenen Fragen über die Ananaphylaxie würdigen zu können, z. B. also die Schnelligkeit, mit der sie entsteht, ihre Dauer, ihre Abhängigkeit von der desensibilisierenden Dosisgröße usw., war es von Bedeutung, zuerst zu bestimmen, wie die Sensibilität sich nach einer einzelnen Injektion eines sensibilisierenden Antigens verhielt, besonders wann die Sensibilität ihren Höhepunkt erreichte, wie lange dies dauerte usw. Dies war wesentlich, da man von vornherein annehmen konnte, daß eine kleine Menge reinjiziertes (desensibilisiertes) Antigen dieselbe Wirkung hervorrufen konnte, d. h. Neutralisation einer gegebenen Menge Antistoff, wie eine größere Menge, wenn die Zeit für die Reaktion zwischen Antigen und Antistoff verlängert wird. Eine nähere Entwicklung würde wohl von allgemeinem biologischen wie rein praktischem Interesse sein, da es in der

1) l. c.

Medizin von Bedeutung sein könnte, zu erfahren, wie lange es dauert, bis eine gewisse kleine Dosis Antigen ganze oder teilweise Desensibilisierung bewirken kann. Hier muß man aber darüber klar sein, ob das Tier sich während dieser Reaktionszeit in einem Zustand von Antistoffproduktion, Antistoffabnahme oder Gleichgewicht befand. Ohne Kenntnis hierüber könnte man Gefahr laufen, ein Resultat ganz falsch zu deuten.

In der Literatur liegen nur wenig Angaben darüber vor, wie lange und wie stark die Sensibilität sich beim Meer-schweinchen nach einer einzigen sensibilisierenden Antigen-injektion hält.

Rosenau und Anderson¹⁾ geben z. B. an, „eine sehr starke Ueberempfindlichkeit“ konstatiert zu haben, 460, 732, ja 1096 Tage nach einer einzelnen sensibilisierenden Injektion von Pferdeserum (beim Meer-schweinchen).

Bis jetzt liegt, soweit mir bekannt, keine weitere systematisch ausgeführte Bestimmung vor. Ich habe deshalb Versuche in dieser Richtung angestellt.

Technik. Um Fehlerquellen betreffend die Resorptionsschnelligkeit bei verschiedenen Tieren (Individuen), wenn das reinjizierte Antigen entweder in das subkutane Gewebe, in die Muskulatur oder die großen Körperhöhlen eingeführt wurde, zu vermeiden, wurden die Versuche ausschließlich mit intravenöser Reinjektion des Antigens ausgeführt, wodurch die gesammelte Menge Antigen immer und auf gleiche Weise direkt in den Kreislauf eingeführt wurde. Wenn die Verhältnisse bei der intravenösen Antigeneinführung aufgeklärt wären, würde man die Verschiedenheiten, die eine Folge von ungleichen Verhältnissen bei anderen Einführungsarten sein könnten, besser schätzen.

Zu allen Versuchen, sowohl zur Sensibilisierung wie zur Reinjektion, wurde Serum, von Blut getrennt, das durch einen bestimmten Aderlaß von einem mit Diphtherietoxin immunisierten Pferd genommen war, angewandt. Dies Serum wurde steril durch Hinzusetzen von 0,5 Proz. Trikresol in steril zugeschmolzenen Glasampullen bei einer Temperatur von 0—4° C aufbewahrt. Es war wichtig, bei allen Versuchen, die verglichen werden sollten, dasselbe Serum anzuwenden, da die für die Anaphylaktisierung resp. die Auslösung des Shocks wirksame Serumfunktion, wie bekannt, an die Globuline geknüpft ist, und ihre Menge bei den einzelnen Pferden nicht unbedeutend variieren kann, nicht am wenigsten während einer Immunisierung mit (Diphtherie-)Toxin. Das angewandte Serum scheint

1) Zit. nach Doerr's Uebersichtsartikel, l. c. p. 983.

in der Zeit, in der die Versuche ausgeführt wurden, sich nicht bemerkbar verändert zu haben, was man wohl auch nicht von vornherein erwartet hatte.

Die Sensibilisierung ist, wie immer, wo die Rede von einer aktiven Sensibilisierung ist, durch subkutane Injektion der betreffenden Antigenmenge, die in jedem Falle mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm gebracht wurde, vor sich gegangen. Die Injektion wurde immer mit einer langen (ca. 10 cm) Kanüle vorgenommen, die beinahe in ihrer ganzen Länge unter die Haut geführt wurde, damit nichts von der eingespritzten Flüssigkeit aus der Stichöffnung herauslaufen konnte. Die intravenöse Injektion wurde in der V. jugularis vorgenommen, die ohne Narkose (wo nichts anderes besonders angegeben ist) durch einen Schnitt am Halse bloßgelegt wurde. Die injizierte Flüssigkeit betrug immer 1 ccm, da die angewandte Serummenge mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm gebracht wurde. Die Injektion wurde, mit Ausnahme besonderer Fälle, bei denen man Gewicht auf eine langsame Injektion legte (was in den betreffenden Versuchen besonders hervorgehoben ist), schnell ausgeführt, und die angewandte Flüssigkeit im Laufe weniger Sekunden eingespritzt. Die intravenös injizierte Flüssigkeit war vorher auf 37° erwärmt. Wo zwischen den Symptomen ein Temperaturfall angeführt ist, bezeichnet die angeführte Anzahl von Graden (Celsius) die Differenz zwischen der Temperatur des Tieres vor der Injektion und der niedrigsten gemessenen Temperatur nach der Injektion. Die Temperatur wurde alle 10 Minuten im Rectum gemessen. Der Temperaturfall ist jedoch nur als einzelnes Symptom im Krankheitsbild mitgenommen, da ich es nicht berechtigt gefunden habe, dieses Symptom als Hauptkriterium (H. Pfeiffer) für die Größe der anaphylaktischen Reaktion anzusehen. Als Hauptkriterium ist dagegen akuter Tod, d. h. Tod innerhalb eines Zeitraumes weniger Minuten (bis 15) nach der intravenösen Injektion gebraucht worden. Die kleinste Menge Serum in Kubikzentimetern, die akuten Tod hervorgerufen hat, ist als D. l. m. (Dosis letalis minima) bezeichnet worden.

Als Beispiel zur Bestimmung von D. l. m. können folgende Versuche angeführt werden.

5 Meerschweinchen, 320–360 g schwer, wurden am 4. I. 1912 mit $\frac{1}{100}$ ccm Pferdeserum subkutan sensibilisiert. Nach 17-tägiger intravenöser Reinjektion:

Tier No.	Intravenöse Reinjektion von	Symptome
1	0,07 ccm	Starb 3 Min. nach der Injektion
2	0,05 "	" 3 " " " "
3	0,04 "	" 6 " " " "
4	0,03 "	" 5 " " " "
5	0,02 "	Schwere Symptome. " Ab und zu Krämpfe. Temperaturfall 6,4°. Ueberlebt.

D. l. m. ist auf 0,03 ccm bestimmt.

Es muß bemerkt werden, daß D. l. m. für Meerschweinchen von gleichem Gewicht auffallend ähnlich ist, wenn die Tiere auf dieselbe Weise und am selben Tage sensibilisiert worden sind und die Reinjektion an einem gegebenen Zeitpunkt nach der Sensibilisierung vorgenommen wurde. Zu Beginn meiner Versuche beobachtete ich wohl zuweilen, daß ein einzelnes Tier bedeutend abwich, indem es z. B. D. l. m. bis 10—15mal mehr als die übrigen Tiere derselben Gruppe hatte. Dies rührte jedoch wahrscheinlich daher, daß bei der sensibilisierenden Injektion nicht genügende Vorsicht beobachtet worden war. Dieselbe ist stets subkutan vorgenommen worden. Wenn nach der Injektion etwas von der injizierten Flüssigkeit durch den Einstich herausfließen sollte, z. B. weil das Tier sich gegen die Wand des Käfigs drückt, so kann die Sensibilität dadurch bedeutend verändert werden. Nachdem ich dafür gesorgt hatte, stets eine lange Kanüle zu gebrauchen und erst weit von der Einstichstelle zu injizieren, sind solche Unregelmäßigkeiten äußerst selten vorgekommen. Ganz selten geschah es trotz aller Vorsicht, daß ein Tier verhältnismäßig wenig empfindlich war; dies beruhte aller Wahrscheinlichkeit nach bei dem betreffenden Tier auf einer abnorm geringen Antikörperbildung. Es geschieht aber nur ganz vereinzelt und ist ohne Bedeutung für die Beurteilung, jedoch muß man sich selbstverständlich nie mit Bestimmungen, die nur an einem Tier ausgeführt wurden, begnügen. Zu jeder Bestimmung der D. l. m. habe ich in der Regel 5 Meerschweinchen gebraucht.

Den Grad der Anaphylaxie, die Sensibilität, habe ich durch die Zahl ausgedrückt, die angibt, wie viele Male die gefundene D. l. m. kleiner ist als die D. l. m. des angewandten Serums für ein unbehandeltes Meerschweinchen von 400 g Gewicht (intravenöse Injektion). Für ein unbehandeltes Tier des erwähnten Gewichts betrug D. l. m. 6 ccm¹⁾. Diese Sensibilität wurde dann 1 genannt. Tiere, für welche D. l. m.

1) Es ist wohl wahrscheinlich, daß das Serum in etwas größerer Menge als 6 ccm vertragen werden könnte, wenn es nicht Trikresol enthielte. Die absolute Größe der Sensibilitätszahlen könnte deshalb vielleicht etwas höher sein; dies ist jedoch in der Verbindung, in der die Zahlen gebraucht werden, ohne Bedeutung.

1 ccm, 0,5 ccm usw. betrug, haben die Sensibilität 6, 12 usw. Die Sensibilität (x) wird also aus der Gleichung $\frac{x}{1} = \frac{6}{a}$ gefunden, wo a im gegebenen Fall D. l. m. ist. Die Sensibilität ist also 6, mit D. l. m. dividiert. Auf dieselbe Weise wird ausgerechnet, welche D. l. m. einer gegebenen Sensibilität entspricht, indem 6 mit der Sensibilitätszahl dividiert wird: $\frac{a}{1} = \frac{6}{x}$. Die absolute Größe der Zahlen gilt natürlich nur für das in meinen Versuchen angewandte Pferdeserum, das, wie schon erwähnt, in allen Versuchen dasselbe gewesen ist.

Versuch 1.

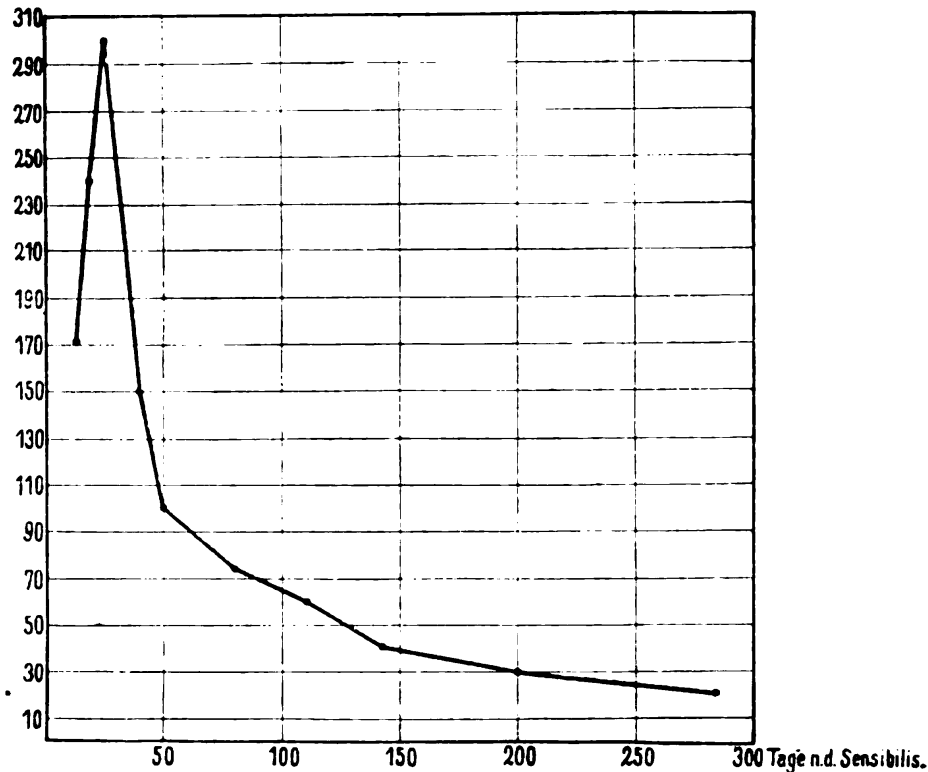
Am 4. I. 1912 wurden 63 Meerschweinchen mit einem Gewicht von je ca. 350 g mit je 0,004 ccm Serum sensibilisiert (subkutane Injektion). Die Sensibilität wurde am unten verzeichneten Tage nach der Sensibilisierung festgestellt.

Tag	D. l. m.	Sensibilität	Durchschnittl. Gewicht
12	0,035	171	420 g
18	0,025	240	435 „
25	0,02	300	448 „
40	0,04	150	510 „
50	0,06	100	530 „
80	0,08	75	660 „
110	0,1	60	700 „
142	0,15	40	725 „
200	0,2	30	735 „
285	0,3	20	790 „

In Kurve 1 (Versuch 1) ist die Sensibilität dargestellt, wie sie sich nach einer einzigen subkutanen Injektion von 0,004 ccm Serum entwickelt hat. Jede einzelne auf der Kurve aufgezeichnete Sensibilitätsbestimmung ist das Resultat von Proben, die mit fallenden Antigenmengen an 5 Tieren angestellt worden waren. Da die Bestimmung hier ganz wie in dem früher erwähnten Beispiel vorgenommen wurde, ist es wohl überflüssig hier den Ausfall jeder einzelnen Injektion aufzuzeichnen. Die Tage vor dem 12. nach der Sensibilisierung sind nicht probiert, da es sich sowohl in andern, wie in einzelnen orientierenden eigenen Versuchen gezeigt hat, daß die Sensibilität vor dem 12. Tage nur relativ schwach ist. Dies geht übrigens auch daraus hervor, daß die Kurve vom

Anfang des 12. Tages an steigt. Man sieht, daß die Kurve ihr Maximum ungefähr am 25. Tage nach der Sensibilisierung erreicht hat. Die Sensibilität hat dann 300 erreicht, welches der D. l. m. 0,02 ccm entspricht. Von hier fällt sie ziemlich jäh und nimmt nach 50—80 Tagen verhältnismäßig schwach ab. Noch am 285. Tage nach der Sensibilisierung ist eine ausgesprochene Sensibilität vorhanden, indem D. l. m. 0,3 ist,

Sensibilität



Kurve 1 (Versuch 1).

die Sensibilität also 20 beträgt. Es ist nicht möglich gewesen, die Sensibilität noch weiter zu verfolgen, da das Leben der Meerschweinchen, jedenfalls bei einem Laboratoriumsaufenthalt, verhältnismäßig kurz ist und deshalb nach dem 285. Tag keine genügende Anzahl von Tieren noch am Leben war, um die D. l. m. zu bestimmen.

Der Versuch wurde mit einer größeren sensibilisierenden Dosis wiederholt, nämlich 0,1 (also 25-mal die im vorigen Versuch gebrauchte).

Versuch 2.

Am 3. III. 1912 wurden 90 Meerschweinchen mit einem Gewicht von 340—400 g mit je 0,1 ccm Serum sensibilisiert (subkutane Injektion). Die Sensibilität wurde am unten verzeichneten Tage nach der Sensibilisierung festgestellt.

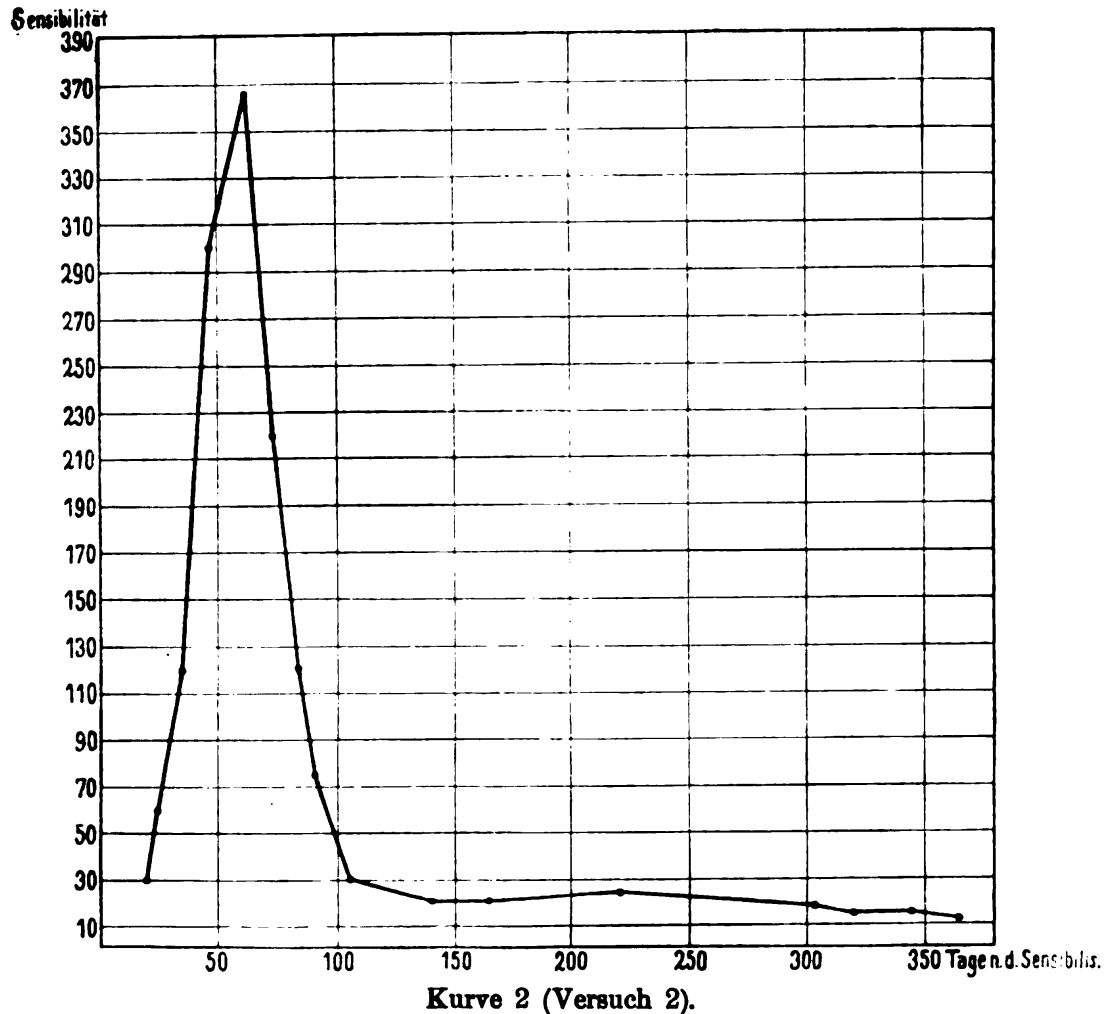
Tag	D. l. m.	Sensibilität	Durchschnittl. Gewicht
18	0,2	30	430 g
23	0,1	60	435 „
34	0,05	120	460 „
47	0,02	300	545 „
62	0,018	367	610 „
73	0,03	200	640 „
83	0,05	120	670 „
91	0,08	75	680 „
105	0,2	30	695 „
141	0,3	20	710 „
165	0,3	20	725 „
221	0,25	24	750 „
304	0,35	17	800 „
320	0,4	15	800 „
345	0,4	15	810 „
365	0,5	12	800 „

Das Resultat ist in Kurve 2 (Versuch 2) aufgezeichnet. Wie man sehen kann, ist die Form der Kurve dieselbe wie in der vorhergehenden Versuchsreihe, die Sensibilität erreicht aber hier ihr Maximum später, indem sie erst am 62. Tage nach der Sensibilisierung kulminierte. Die Sensibilität ist hier = 367 (D. l. m. 0,018), also annähernd so groß wie das Maximum im vorigen Versuch. Der Fall der Kurve entspricht völlig demjenigen von Kurve 1. Die Sensibilität hat in diesem Versuch ein ganzes Jahr hindurch verfolgt werden können. Am 365. Tage beträgt sie noch 12 (D. l. m. = 0,5).

Einige Versuche haben gezeigt, daß es kein Zufall ist, wenn die Sensibilität in diesem Versuch mit einer sensibilisierenden Dosis = 25-mal größer als im vorigen, ihr Maximum später erreicht. Wenn noch größere Dosen angewandt werden, z. B. 0,5—1 ccm, wird das Maximum noch später erreicht. Ueber systematische Untersuchungen hierüber verfüge ich aber nicht. Auf der anderen Seite liegen in der Literatur einige Untersuchungen von Doerr und Russ¹⁾ vor, die zeigen, daß durch Anwendung einer sehr kleinen sensibilisierenden Dosis (0,0001—0,00001 ccm) das Maximum gleichfalls

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909.

verhältnismäßig spät nach der Sensibilisierung erreicht wird. Man darf wohl davon ausgehen, daß dieses späte Maximum durch sehr kleine sensibilisierende Dosen von einer langsameren Antikörperbildung herrührt. Wie die langsamer steigende Kurve durch die großen Dosen erklärt werden soll, verursacht weit größere Schwierigkeiten. Es ist natürlich, sie in Ver-



bindung mit denjenigen Beobachtungen zu betrachten, die zeigen, daß große Dosen Antigen in der präanaphylaktischen oder der anaphylaktischen Periode geringe oder jedenfalls erst spät eintretende Sensibilität geben. Wir werden später hierauf noch zurückkommen.

Unter allen Umständen scheint es, was nicht nur aus den genannten, sondern auch aus zahlreichen andern kleineren

Versuchsreihen hervorgeht, daß die Sensibilisierung mit Dosen von ungefähr 0,004 ccm Serum am schnellsten eine ausgesprochene Sensibilität gibt, deren Stärke durch Anwendung größerer sensibilisierender Serumdosen wohl erreicht, aber kaum übertroffen werden kann.

Wie bereits erwähnt, ist überaus gute Uebereinstimmung zwischen der Sensibilität bei Tieren innerhalb derselben Gruppen und zur selben Zeit gewesen. Dagegen zeigt eine dritte Versuchsreihe, die jedoch nicht so systematisch wie die beiden vorhergehenden durchgeführt werden konnte, daß man das Resultat von einem Versuch auf den anderen nicht ganz und gar übertragen darf, selbst wenn dieser ganz auf dieselbe Weise ausgeführt wird, und selbst wenn man, wie in meinen Versuchen, zu allen Injektionen dasselbe Serum anwendet. Der Versuch sollte eigentlich Kurve 1 durch einige Sensibilisierungsbestimmungen ergänzen, indem nach meiner Meinung ziemlich lange Zeiträume zwischen den bereits vorgenommenen Sensibilitätsbestimmungen bestehen. Er wurde auf genau dieselbe Weise ausgeführt, und die sensibilisierende Dosis war dieselbe, nämlich 0,004 ccm. Der Versuch gab folgende Resultate.

Versuch 3.

38 Meerschweinchen mit einem Gewicht von 350—400 g wurden am 12. X. 1912 jedes mit 0,004 ccm Serum sensibilisiert.

Tag	D. l. m.	Sensibilität	Durchschnittsgewicht
15	0,01 ccm	600	425 g
50	0,008 „	750	550 „
83	0,006 „	1000	640 „
124	0,007 „	857	700 „
149	0,01 „	600	700 „
202	0,03 „	200	730 „

Wie man sieht, war die Sensibilität bereits am 15. Tage bedeutend höher als im vorigen Versuch (Kurve 1), und die Sensibilität stieg weiter, so daß sie, als am 83. Tage das Maximum erreicht war, 1000 betrug (D. l. m. 0,006 ccm). Gleichfalls scheint sie relativ langsam abzunehmen. Zwischen den einzelnen Tieren in diesem Versuch wurde kein Sensibilitätsunterschied von Bedeutung beobachtet. Was den ausgesprochenen Unterschied zwischen dieser Tiergruppe und derjenigen, deren Sensibilität in Kurve 1 aufgeführt ist, her-

vorgerufen hat, ist schwer zu sagen. Der einzige äußere Unterschied in den Versuchsbedingungen, welcher an den Tieren in den zwei Gruppen besteht, ist der, daß die ersten Tiere zu Beginn des Jahres sensibilisiert wurden (wie diejenigen Tiere, die der Kurve 2 entsprechen), während die letzteren im Oktober sensibilisiert wurden. Es ist ja denkbar, daß äußere Verhältnisse, die mit der Jahreszeit in Verbindung stehen (und hiermit auch das angewandte Futter), sich geltend gemacht haben können. An und für sich ist ja nichts Unwahrscheinliches darin, daß die Antistoffproduktion unter ungleichen Verhältnissen verschieden verlaufen kann. Unter allen Umständen zeigem die Versuche, daß man nicht ohne weiteres an einen gegebenen Zeitpunkt nach der Sensibilisierung von einer Tiergruppe auf die andere Schlüsse über die Sensibilität ziehen kann, selbst wenn im übrigen die Sensibilisierung auf genau dieselbe Weise vorgenommen ist. Man kann also nicht davon ausgehen, daß Tiere vom selben Gewicht, die z. B. mit 0,004 ccm Serum sensibilisiert worden sind, 40, 60, 100 Tage usw. nach der Sensibilisierung eben die Sensibilität besitzen, die man früher bei einer anderen Gruppe mit derselben Dosis, vom selben Serum sensibilisierten Tieren gefunden hat, und man kann so nicht eine in einer anderen Versuchsreihe gefundene Sensibilität der Wirkung einer anaphylaktisierenden subletalen Antigeninjektion zugrunde legen. Man muß notwendigerweise, um über die anaphylaktisierende Wirkung Schlüsse ziehen zu können, Kontrolltiere von derselben Gruppe haben.

Höchst eigentümlich erscheint es, daß Meerschweinchen auf eine einzige Antigendosis von so unbedeutender Größe wie 0,004 ccm Serum es ist, eine so ausgesprochene Sensibilität entwickeln, wie es der Fall ist, und daß diese Sensibilität noch sehr lange nach der Sensibilisierung deutlich vorhanden ist. Es werden in der Literatur oft summarische Angaben darüber gefunden, daß die Sensibilität jahrelang unverändert bestehen kann, was sicher nicht zutrifft; dies geht ja deutlich genug aus dem Vorhergehenden hervor. Trotzdem scheint man aber hier mit etwas an und für sich Einzigdastehenden innerhalb der Immunisierungsprozesse zu tun zu haben. Es kann kaum ein anderes Beispiel von einer so ausgesprochen

immunisatorisch hervorgerufenen Wirkung nach einer einzigen unbedeutenden Antigenzufuhr genannt werden. Dies muß um so merkwürdiger erscheinen, da das Meerschweinchen keineswegs ein besonders stark antistoffbildendes Tier ist und besonders in Beziehung zur Produktion von Antikörpern für Proteinstoffe dem Kaninchen gegenüber weit zurücksteht, das sich indessen nicht mit so kleinen Dosen Antigen wie Meerschweinchen sensibilisieren läßt, nicht einmal verhältnismäßig. Etwas vom Eigentümlichen geht aber verloren, wenn man bedenkt, daß man durch die Bestimmung der Sensibilität nicht direkt die Menge des Antikörpers mißt, sondern nur eine Folge ihres Vorhandenseins innerhalb einer bestimmten, in Wirklichkeit ziemlich kleinen Breite. Aller Wahrscheinlichkeit nach (das wird aus dem Nachstehenden näher hervorgehen) gehört tatsächlich nur eine recht kleine Menge Antistoff dazu, um eine wohlausgesprochene Sensibilität zu geben, und es ist Grund vorhanden, anzunehmen, daß der Ueberschuß von Antistoff über eine gewisse verhältnismäßig niedrige Grenze die Sensibilität nicht vermehrt, sondern sie entweder unbeeinflusst läßt oder sie vielleicht sogar vermindert (siehe später Kurve 3). Ferner muß angenommen werden, daß das Meerschweinchen der Reaktion zwischen Antigen (Protein) und Antistoff gegenüber überaus empfindlich ist. Daß die Menge der Antikörper, die das hoch sensibilisierte Meerschweinchen produziert hat, nicht groß ist, geht übrigens daraus hervor, daß das Serum von Meerschweinchen, die mit einer einzigen kleinen Dosis hoch aktiv sensibilisiert sind, gar nicht oder doch nur in geringem Grade dazu imstande ist, die Anaphylaxie passiv zu überführen. Die starke Sensibilität bei Meerschweinchen muß dann nicht durch eine besonders große Antistoffproduktion erklärt worden, sondern durch die anderen erwähnten Umstände.

Wie aus Kurve 1 und 2 hervorgeht, erreicht die Sensibilität nach einer gewissen Zeit ihr Maximum, danach nimmt sie ab, zuerst jäh, später langsam. Dies ist also gewissermaßen eine spontan eintretende relative Anaphylaxie. Man muß indessen danach fragen, inwiefern diese Anaphylaxie in Wirklichkeit auf einer realen Verminderung der Antistoffmenge beruht oder ob sie nur ein Ausdruck dafür

ist, daß das Tier mit zunehmendem Alter gewachsen und an Gewicht zugenommen hat, wodurch die Wirkung einer gegebenen Antistoffmenge denkbarerweise vermindert werden könnte. In der Literatur findet man ab und zu Angaben, die davon auszugehen scheinen, daß, wenn die D. l. m. für ein Meerschweinchen von 300 g Gewicht z. B. 0,03 ccm beträgt, sie für ein anderes Meerschweinchen von 600 g Gewicht ca. 0,06 ccm unter im übrigen gleichen Verhältnissen beträgt. Von genaueren Angaben will ich die Friedbergers¹⁾ anführen. Friedberger sensibilisierte subkutan Meerschweinchen von verschiedenem Gewicht mit je 0,02 ccm Schafserum pro 100 g Meerschweinchen und bestimmte nach 15 Tagen D. l. m. durch intravenöse Injektion.

Das Resultat ergab als D. l. m. pro 100 g Gewicht:

für Tiere mit einem Gewicht von	190—200 g	0,005 ccm
" " " " " "	270—390 "	0,005 "
" " " " " "	500—600 "	0,5 "

D. l. m. war so nicht dem Körpergewicht proportional.

In absolute Dosen umgerechnet, betrug die D. l. m.:

für Meerschweinchen mit einem Gewicht von	190—200 g	0,0095—0,01 ccm
" " " " " "	270—390 "	0,0135—0,0195 "
" " " " " "	500—600 "	2,5—3,0 "

Hiernach sollte die absolute Sensibilität für die Tiere der mittelsten Gruppe nur etwas schwächer sein, als für diejenigen der ersten Gruppe, wogegen die für die letztere (Tiere von 5—600 g Gewicht) sehr gering sein sollte. Da diese Angaben augenscheinlich nicht mit den Erfahrungen übereinstimmten, die ich selbst gemacht hatte, habe ich die Verhältnisse genauer untersucht. Was ich indessen wissen möchte, wäre, ob Tiere von verschiedenem Gewicht, die mit derselben absoluten Dosis sensibilisiert waren, verschiedene Sensibilität zeigen würden, denn es mußte ja bei der Beurteilung meiner Versuche zugrunde gelegt werden, inwiefern die Gewichtsvermehrung selbst, welcher das Tier bei zunehmendem Alter unterworfen war, einen Einfluß auf die Sensibilität hatte. Es wäre ja denkbar, daß die größeren

1) Fortschr. der deutschen Klinik, Bd. 2, 1911, zit. nach Doerr (l. c.), Weichardts Jahresber., p. 985.

Tiere auf eine gegebene Antigendosis schwächer reagierten, selbst wenn ihre Antistoffmenge die gleiche wie bei kleineren (jüngeren) Tieren war. Es wurde deshalb folgender Versuch angestellt (Versuch 4).

Versuch 4.

Am 3. V. 1913 wurde jedes Tier mit 0.004 ccm Serum (subkutan) sensibilisiert:

I. 5	Meerschweinchen	mit einem Gewicht von	160—175 g
II. 5	"	"	350—375 "
III. 5	"	"	600—625 "
IV. 5	"	"	850—900 "

Die Sensibilität wurde am 25. Tage nach der Sensibilisierung bestimmt:

D. l. m.	betrug dann für Gruppe	I	0,1 ccm, die Sensibilität	60
" " "	"	II	0,03 "	200
" " "	"	III	0,03 "	200
" " "	"	IV	0,3 "	20

Hieraus geht hervor, daß die ganz jungen und namentlich die alten Tiere verhältnismäßig wenig empfindlich waren. Die Unübereinstimmung zwischen Friedbergers Resultaten und den meinigen muß wohl darin gesucht werden, daß Friedberger seine Tiere mit 0,02 ccm Serum pro 100 g des Tiergewichtes sensibilisierte, was also sagen will, daß die sensibilisierende Dosis für seine Tiere mit einem Gewicht von 5—600 g 0,1—0,12 ccm betrug. Friedberger untersuchte die Sensibilität für alle Tiere am 15. Tage nach der Sensibilisierung, nach meinen vorne erwähnten Versuchen (Kurve 2) tritt das Maximum der Sensibilität aber bedeutend später ein, wenn die Tiere mit verhältnismäßig großer Serummenge (Kurve 1 und 2) sensibilisiert sind.

In meinen Versuchen hatten Tiere mit einem Gewicht von 350—375 g und von 600—625 g ganz dieselbe Sensibilität, wenn sie mit der gleichen absoluten Dosis sensibilisiert waren. Man könnte gegen meine Versuche die Einwendung machen, daß die Sensibilität für die großen Tiere (850—900 g) sich vielleicht größer gezeigt hätte, wenn längere Zeit nach der Sensibilisierung verstrichen wäre, ebenso wie das Maximum sich erst spät einfand, wenn eine verhältnismäßig große sensibilisierende Dosis angewandt worden war. Diese Einwendung

habe ich durch Sensibilisieren von 20 Meerschweinchen mit einem Gewicht von 850—900 g, je mit 0,004 ccm Serum, und durch Feststellen der Sensibilität zu verschiedener Zeit, zu widerlegen versucht. Es zeigte sich in dieser Reihe, daß das Maximum auf den 30. Tag fiel, wo D. l. m. 0,25 ccm betrug, daraufhin nahm die Sensibilität ab, indem sie am 32. Tage 0,35 ccm und am 40. Tage 0,4 ccm betrug. Eine weitere Probe ließ sich nicht anstellen, da keine Tiere mehr zur Verfügung standen. Die absolute Größe der D. l. m. zeigte sich also auch hier als bedeutend.

Für ganz junge (neugeborene) Meerschweinchen (Gewicht ca. 130 g), die aktiv sensibilisiert werden, haben Friedberger und Simmel¹⁾ die Sensibilität bestimmt und gefunden, daß für sie die D. l. m. ca. 10mal größer war als für die entsprechenden sensibilisierten Tiere mit einem Gewicht von ca. 300 g. Dies stimmt sehr gut mit meinen Versuchen überein, in denen die D. l. m. für die kleinen Tiere wohl nur 3—4mal kleiner war, in denen die Tiere aber auch etwas älter waren.

Hierauf wird es von Interesse sein, die Frage wieder aufzunehmen, ob die abnehmende Sensibilität, die auf Kurve 1 und 2 sichtbar ist, vielleicht in Wirklichkeit nicht bedeutet, daß der Antistoff verschwindet, sondern nur, daß die Tiere älter und größer geworden sind und deshalb schwächer reagieren.

Eine nähere Erklärung fordert jedoch die Frage, ob die schwächere Sensibilität, die bei Tieren mit einem Gewicht von 850—900 g (IV) beobachtet wird, von ihrem Alter und ihrer Größe und den damit verbundenen physiologischen Verhältnissen als solchen herrührt, oder ob es daher stammt, daß Tiere dieses Alters weniger Antistoff bilden als jüngere. Betrachtet man Kurve 1 und 2, so sieht man, daß die Tiere, wenn sie ein Gewicht von ungefähr 800 g erreicht haben, eine Sensibilität besitzen, die der D. l. m. von ca. 0,3 ccm entspricht. Man könnte dadurch vielleicht zu dem Schluß verleitet werden, daß Tiere, die 800—900 g wiegen, keine höhere Sensibilität

1) Freie Vereinigung für Mikrobiologie, 7. Tagung 1913, Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., Bd. 7, 1913, p. 463.

besitzen als D. l. m. 0,3 ccm entsprechend, selbst wenn sie im übrigen im Besitz von ebensoviel Antistoff sind, wie ja auch Tiere mit einem Gewicht von 350—400 g eine Sensibilität geben, die 10—15mal größer ist. In diesem Falle würde die niedrige Sensibilität, die sich in Kurve 1 und 2 zeigt, ungefähr am 300. Tage nach der Sensibilisierung, kein Ausdruck einer Abnahme der Antistoffmenge sein, sondern nur ein Ausschlag einer geringeren Reaktionsfähigkeit als Folge des Alters des Tieres. Dies ist aber unwahrscheinlich, wenn man die ganze Kurve im Zusammenhang betrachtet. Es wird nämlich deutlich genug ein Herabsinken in der Sensibilität gefunden, das schon beginnt, wenn die Tiere ein Gewicht von ungefähr 500—600 g erreicht haben. Tiere von dieser Größe haben aber eben gezeigt, daß sie keine geringere Sensibilität erhalten, als Tiere von 350—375 g Gewicht, wenn sie gleichzeitig sensibilisiert werden (s. oben Versuch 4, II und III). Die niedrige Sensibilität bei den in der Kurve aufgezeichneten Tieren von 500—600 g Gewicht (Versuch 1 und 2) kann kaum vom zunehmenden Alter der Tiere herrühren, muß aber von einer Abnahme der Antistoffe stammen. Selbstverständlich kann jedoch der Gedanke nicht völlig abgewiesen werden, daß Tiere mit einem Gewicht von ungefähr 600 g an und für sich schwächer reagieren, als sie infolge ihres Alters und ihrer Größe tun sollten, aber mehr Antistoff bilden. Dadurch würde man mit zwei einander entgegenwirkenden Faktoren zu tun haben, die denkbarerweise einander aufheben könnten, so daß man zu dem Resultat käme, daß 2 Tiere mit einem Gewicht von 350 bzw. 600 g durch gleichzeitige Sensibilisierung eine gleichartige Sensibilität an einem gegebenen Zeitpunkt nach der Sensibilisierung zeigen könnten, trotzdem hinter diesen scheinbaren Gleichartigkeiten verschiedene Ursachen lagen. Wenn dies der Fall wäre, brauchten Kurve 1 und 2 nicht zu bedeuten, daß die Antistoffmenge im Lauf der Zeit fiel.

Um die Sache weiter zu beleuchten, habe ich Versuche mit passiver Ueberführung der Anaphylaxie gemacht. Diese Versuche haben den Vorteil, daß man ein Maß dafür hat, wieviel Antistoff man dem Tier gibt, und man kann so leichter Vergleiche anstellen.

Versuch 5.

a)	5	Meerschweinchen	mit	einem	Gewicht	von	150—170	g
b)	5	"	"	"	"	"	450—500	"
c)	5	"	"	"	"	"	700—720	"
d)	5	"	"	"	"	"	800—860	"

wurden passiv, je mit 2 ccm Kaninchen-Antipferdeserum intraperitoneal sensibilisiert. Nach 30 Stunden wurde die Sensibilität durch intravenöse Injektion festgestellt. D. l. m. für die genannten 4 Tiergruppen betrug:

a)	D. l. m.	0,005	ccm,	Sensibilität	1200
b)	" " "	0,005	"	"	1200
c)	" " "	0,005	"	"	1200
d)	" " "	0,006	"	"	1000

Wie man sieht, haben alle Tiere eine fast gleichartige, sehr starke Sensibilität bekommen. Die größten Tiere waren wohl etwas schwächer sensibilisiert, es wird aber auch nicht annähernd der Unterschied in der Sensibilität beobachtet, welchen die Versuche mit aktiver Anaphylaxie gezeigt haben.

Da diese Tiere also eine Sensibilität bekommen haben, die, nach dem, was später noch hervorgehoben wird, maximal zu sein scheint, wäre es doch möglich, daß Verschiedenheiten hervortreten könnten, wenn man ein schwächer anaphylaktisierendes Serum anwendete. Der Versuch wurde deshalb nochmals ganz auf dieselbe Weise ausgeführt, nur mit Anwendung eines schwächeren Antiserums. Das sensibilisierende Serum wurde jedoch in diesem Versuch (6) intravenös eingespritzt, um mögliche Unterschiede bei der Resorption zu vermeiden. Das Resultat war folgendes:

Versuch 6.

a)	D. l. m.	0,02	ccm,	Sensibilität	300
b)	" "	0,03	" "	"	200
c)	" "	0,04	" "	"	150
d)	" "	0,06	" "	"	100

Man sieht hier, daß die Sensibilität unzweifelhaft mit der Größe des Tieres abnimmt, trotzdem sämtlichen Tieren auf absolut gleiche Weise dieselbe Menge Antistoff zugeführt ist. Der Unterschied zwischen den größten Tieren (d) und Tieren von ca. 450 g (b) ist jedoch bei weitem nicht so groß wie bei aktiver Anaphylaktisierung (s. vorn). Man darf wohl deshalb sicher daraus schließen, daß die Ursache der geringen Sensibilität bei der aktiven Sensibili-

sierung ganz kleiner, wie namentlich sehr großer Tiere zum wesentlichsten Teil von der geringeren Produktion von Antistoffen in diesen beiden Altern herrührt. In bezug auf die kleinen Tiere ist die Sache vermeintlich ganz klar, und diese Anschauung ist auch früher von Friedberger und Simmel¹⁾ eben auf Grund vergleichender Untersuchungen von aktiver und passiver Sensibilisierung vertreten worden. In bezug auf die großen Tiere ist das Verhältnis komplizierter, weil die Größe resp. das Alter der Tiere als solches die Sensibilität kleiner macht (s. Versuche mit passiver Anaphylaxie), aber die wesentlichste Ursache der geringeren Sensibilität bei der aktiven Sensibilisierung muß doch in der mangelhaften Antistoffbildung gesucht werden. Es geht daraus hervor, daß man keineswegs einfach das Körpergewicht der Beurteilung zugrunde legen kann. D. l. m. steigt nicht unter gleichen Verhältnissen, in einfach proportionalem Verhältnis zum Gewicht. Mit den gewonnenen Erfahrungen müssen die Kurven (1 u. 2) so beurteilt werden, daß die abnehmende Sensibilität zum Teil und im wesentlichsten auf die Antistoffausscheidung, teils gleichzeitig auf das Alter und die Gewichtszunahme der Tiere zurückzuführen ist.

Indem ich in bezug auf die verschiedenen Grundfragen über die Entwicklung und das Bestehen der Anaphylaxie orientiert war, habe ich den Versuch gemacht, einige der vorerwähnten Verhältnisse über den Grad und die Entwicklungsschnelligkeit der Ananaphylaxie nach Injektion von subletalen, desensibilisierenden Antigendosen klarzulegen. Es zeigte sich aber bald, daß es sehr schwierig war, generell geltende Regeln aufzustellen. Das wird aus folgenden Versuchen hervorgehen.

Versuch 7.

6. I. 1913. 25 Meerschweinchen von einem Gewicht von 375—400 g wurden je mit 0,004 ccm Serum sensibilisiert; 20 Tage später wurde an 5 Tieren (No. 1—5) D. l. m. durch eine intravenöse Injektion bestimmt. Sie betrug 0,02 ccm. Der Rest der Tiere (No. 6—25) bekam je $\frac{D. l. m.}{2}$ intravenös, also 0,01 ccm; 20 Minuten (Tiere No. 6—10), 2 $\frac{1}{2}$ Stunden

1) l. c.

(No. 11—15), 24 Stunden (No. 16—20) und 8 Tage (No. 21—25) nach der ersten Reinjektion wurde die erreichte Ananaphylaxie durch erneute intravenöse Reinjektion geprüft.

Meerschw. No.	Dosis bei der 1. Reinjektion 20 Tage nach der Sensibilisierung	Symptome	Dosis bei der 2. Reinjektion	Zwischenraum zwischen der 1. u. 2. Reinjektion	Symptome
1	0,04 ccm	Tod 5 Min. nach der Injekt.			
2	0,03 "	Tod 4 " " " "			
3	0,02 "	Tod 6 " " " "			
4	0,015 "	Starke Respirationsbeschwerden, Husten, Krämpfe. Ueberlebt. Temperaturfall 5,3°			
5	0,01 "	Ziemlich schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall 5,3°			
6	0,01 ccm	Ziemlich schwere Symptome	0,05 ccm	20 Min.	Tod 3 1/2 Min. nach der Injekt.
7	0,01 "	" " "	0,04 "	dgl.	Tod 4 1/2 " " " "
8	0,01 "	" " "	0,03 "	"	Tod 5 " " " "
9	0,01 "	" " "	0,025 "	"	Schwere Symptome. Ueberlebt
10	0,01 "	" " "	0,02 "	"	" " "
11	0,01 ccm	Ziemlich schwere Symptome	0,4 ccm	2 1/2 Std.	Tod 4 Min. nach der Injekt.
12	0,01 "	" " "	0,3 "	dgl.	Tod 3 " " " "
13	0,01 "	Sehr schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall 5,5°	0,2 "	"	Schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall 4,3°
14	0,01 "	Ziemlich schwere Symptome	0,15 "	"	Schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall 4,4°
15	0,01 "	" " "	0,1 "	"	Ziemlich schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall 3,6°
16	0,01 ccm	Ziemlich schwere Symptome	0,5 ccm	24 Std.	Schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall 6,2°
17	0,01 "	" " "	0,4 "	dgl.	Tod 4 1/2 Min. nach der Injekt.
18	0,01 "	" " "	0,3 "	"	Tod 4 " " " "
19	0,01 "	" " "	0,2 "	"	Tod 3 1/2 " " " "
20	0,01 "	" " "	0,1 "	"	Schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall 4,6°
21	0,01 ccm	Ziemlich schwere Symptome	0,3 ccm	8 Tage	Tod 4 1/2 Min. nach der Injekt.
22	0,01 "	" " "	0,2 "	dgl.	Tod 6 " " " "
23	0,01 "	" " "	0,15 "	"	Tod 5 " " " "
24	0,01 "	" " "	0,1 "	"	Tod 7 " " " "
25	0,01 "	" " "	0,08 "	"	Schwere Symptome. Ueberlebt

Das Resultat war folgendes: D. l. m. beträgt nach der Sensibilisierung 0,02 ccm (Tiere No. 1—5), die Sensibilität ist

also 300, die Tiere No. 6—20 erhalten darauf intravenös als desensibilisierende Dosis $0,01 \text{ ccm} = \frac{\text{D. l. m.}}{2}$. Alle Tiere zeigen starke, zum Teil sogar sehr starke anaphylaktische Symptome. Die erreichte Ananaphylaxie wird nach 20 Minuten durch intravenöse Injektion (Tiere No. 6—10) geprüft. Es wird hier eine eben meßbare Ananaphylaxie beobachtet, indem die D. l. m. von 0,02 ccm jetzt auf 0,03 ccm gestiegen ist = Sensibilität 200. Nach Verlauf von $2\frac{1}{2}$ Stunden (Tiere No. 11—15) ist eine ausgesprochene, obgleich keineswegs absolute Ananaphylaxie vorhanden. D. l. m. beträgt nur 0,3 ccm (= Sensibilität 20). Nach Verlauf von 24 Stunden ist die Ananaphylaxie jedenfalls nicht stärker geworden als nach $2\frac{1}{2}$ Stunden. D. l. m. scheint ungefähr bei 0,2 ccm (= Sensibilität 30) zu liegen; es ist aber hier eine Unregelmäßigkeit vorhanden, indem ein Tier (No. 16) 0,5 ccm verträgt. Nach 8 Tagen ist die Ananaphylaxie gar nicht stärker geworden (D. l. m. 0,1 ccm = Sensibilität 60). Es kann natürlich nicht ganz ausgeschlossen sein, daß die Tiere am 20. Tage noch nicht das Maximum der Sensibilität erreicht haben, auch nicht, daß nach Injektion der desensibilisierenden Dosis neugebildeter Antistoff vorhanden sein kann.

Der folgende Versuch (No. 8) zeigte, daß die erreichte Ananaphylaxie nach präventiver Injektion von $\frac{\text{D. l. m.}}{2}$ weit geringer war. Der Versuch wurde auf ganz dieselbe Weise wie der vorige angestellt, die Tiere wurden aber erst am 41. Tage nach der Sensibilisierung geprüft. Sie waren hier bedeutend stärker sensibilisiert als die Tiere des vorigen Versuches am 20. Tage.

Versuch 8.

25. IX. 1913. 30 Meerschweinchen mit einem Gewicht von 375—425 g wurden mit je 0,004 ccm Serum sensibilisiert, 41 Tage später wurde die Sensibilität (Tiere No. 1—5) bestimmt. Sie betrug 0,008 ccm (Sensibilität 750). Die Tiere No. 6—25 erhielten darauf intravenös $0,004 \text{ ccm} = \frac{\text{D. l. m.}}{2}$. Die Ananaphylaxie wurde nach 20 Minuten (No. 6—10), nach $2\frac{1}{2}$ Stunden (No. 11—15), nach 24 Stunden (No. 16—20) und nach 8 Tagen (No. 21—25) geprüft. Die letzten 5 Tiere (No. 26—30) dienen als Kontrolltiere für die Sensibilität am 49. Tage.

Meerschw. No.	Dosis bei der 1. Reinjektion 41 Tage nach der Sensibilisierung	Symptome	Dosis bei der 2. Reinjektion	Intervall zwischen der 1. u. 2. Reinjektion	Symptome
1	0,02 ccm	Tod 6 Min. nach der Injekt.			
2	0,01 "	Tod 4 " " " "			
3	0,009 "	Tod 5 " " " "			
4	0,008 "	Tod 5 1/2 " " " "			
5	0,007 "	Schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall 6,2°			
6	0,004 ccm	Ziemlich schwere Symptome	0,02 ccm	20 Min.	Tod 4 Min. nach der Injekt.
7	0,004 "	" " " "	0,01 dgl.		Tod 7 " " " "
8	0,004 "	Schwere Symptome	0,009 "		Tod 5 " " " "
9	0,004 "	Sehr schwere Symptome	0,009 "		Sehr krank. Ueberlebt. Temperaturfall 6,4°
10	0,004 "	Schwere Symptome	0,008 "		Sehr krank. Ueberlebt. Temperaturfall 5,9°
11	0,004 ccm	Ziemlich schwere Symptome	0,05 ccm	2 1/2 Std.	Tod 2 1/2 Min. nach der Injekt.
12	0,004 "	" " " "	0,02 dgl.		Tod 4 " " " "
13	0,004 "	" " " "	0,01 "		Tod 4 " " " "
14	0,004 "	Schwere Symptome	0,009 "		Sehr krank. Ueberlebt. Temperaturfall 5,6°
15	0,004 "	" " "	0,009 "		Sehr krank. Ueberlebt. Temperaturfall 6,2°
16	0,004 ccm	Schwere Symptome	0,03 ccm	24 Std.	Tod 4 1/2 Min. nach der Injekt.
17	0,004 "	" " "	0,02 dgl.		Tod 4 " " " "
18	0,004 "	" " "	0,01 "		Tod 7 " " " "
19	0,004 "	Ziemlich schwere Symptome	0,009 "		Tod 6 " " " "
20	0,004 "	Schwere Symptome	0,008 "		Sehr krank. Ueberlebt
21	0,004 ccm		0,02 ccm	8 Tage	Tod 3 Min. nach der Injekt.
22	0,004 "		0,01 dgl.		Tod 10 " " " "
23	0,004 "		0,009 "		Tod 7 " " " "
24	0,004 "		0,009 "		Schwere Symptome. Ueberlebt.
25	0,004 "		0,008 "		Tod 6 Min. nach der Injekt.
26	0,01 ccm	Tod 4 1/2 Min. nach der Injekt.			
27	0,009 "	Tod 8 " " " "			
28	0,008 "	Tod 7 1/2 " " " "			
29	0,008 "	Sehr schwere Symptome. Ueberlebt			
30	0,007 "	Schwere Symptome. Ueberlebt			

Als Resultat dieses Versuches geht hervor, daß D. l. m. 41 Tage nach der Sensibilisierung 0,008 ccm (Sensibilität 750) betrug (Tiere No. 1–5).

Nach intravenöser Injektion von 0,004 ccm = $\frac{D. l. m.}{2}$ war die Anaphylaxie sowohl nach 20 Minuten wie nach 2 1/2 Stun-

den, 24 Stunden und nach 8 Tagen nur eben angedeutet, indem 0,009 ccm entweder den Tod oder doch sehr schwere Symptome bedingten, während D. l. m. vor der desensibilisierenden Injektion von $\frac{\text{D. l. m.}}{2}$ am 41. Tage 0,008 ccm betrug und 9 Tage später nicht verändert war. Die Wirkung der desensibilisierenden Dosis ist nach 8 Tagen nicht größer als nach 24 Stunden, und es zeigen die Kontrolltiere No. 26—30, daß dies nicht auf Neubildung von Antistoff seit dem 41. Tage beruhen kann, sondern daher rühren muß, daß die desensibilisierende Wirkung schnell aufhört¹⁾. Endlich will ich einen 3. Versuch anführen (Versuch 9, p. 236), in dem die desensibilisierende Wirkung der $\frac{\text{D. l. m.}}{2}$ sehr ausgesprochen war.

Aus dem Versuch 9 (p. 236) geht hervor, daß D. l. m. am 20. Tage nach der Sensibilisierung 0,15 ccm betrug (Sensibilität 40). Nach intravenöser Injektion von 0,08 ccm = am ehesten $\frac{\text{D. l. m.}}{2}$ war die Ananaphylaxie schon nach 20 Minuten deutlich ausgesprochen, indem die D. l. m. jetzt 1 ccm betrug (Sensibilität 6). Nach 2 $\frac{1}{2}$ und 24 Stunden war sie noch stärker, D. l. m. ca. 3 ccm (die Sensibilität also 2).

Es ist also ersichtlich, daß man sich nicht im allgemeinen über die desensibilisierende Wirkung einer bestimmten Menge Serum oder eines gewissen Bruchteils der D. l. m. aussprechen kann. Die Wirkung hängt in erster Linie davon ab, wie stark die Tiere sensibilisiert sind. Dagegen ist es nur von geringer, wenn überhaupt von irgendeiner nachweisbaren Bedeutung, ob die Tiere bei der desensibilisierenden Antigeninjektion reagiert haben. Selbst ein sehr starker Shock führt an und für sich keine Ananaphylaxie von Bedeutung mit sich.

Daß die desensibilisierende Wirkung der $\frac{\text{D. l. m.}}{2}$ desto größer, je weniger das Tier sensibilisiert ist, und daß die

1) Daß das Antigen (hier 0,08 ccm), welches bei der ersten Reinjektion verwendet wurde, neuen Antistoff hervorrufen sollte, ist wohl kaum wahrscheinlich, aber doch eine Möglichkeit, mit der man rechnen muß.

Versuch 9.

20. IX. 1913. 20 Meerschweinchen von 380—415 g Gewicht wurden je mit 0,1 ccm Serum sensibilisiert. 20 Tage später wurde die D. l. m. durch intravenöse Injektion (Tiere No. 1—5) bestimmt. Der Rest der Tiere bekam $\frac{D. l. m.}{2}$ intravenös, und nach 20 Minuten, bzw. $2\frac{1}{2}$ und 24 Stunden wurde die Sensibilität geprüft.

Meersch. No.	Dosis bei der 1. Reinjektion 20 Tage nach der Sensibilisierung	Symptome	Dosis bei der 2. Reinjektion	Intervall zwischen der 1. u. 2. Reinjektion	Symptome
1	0,3 ccm	Tod 4 Min. nach der Injekt.			
2	0,2 "	Tod 7 " " "			
3	0,15 "	Tod 6 " " "			
4	0,1 "	Schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall $5,3^{\circ}$			
5	0,1 "	Ziemlich schwere Symptome. Ueberlebt. Temperaturfall $2,8^{\circ}$			
6	0,08 ccm	Ziemlich schwere Symptome.	3,0 ccm	20 Min.	Tod 3 Min. nach der Injekt.
7	0,08 "	" " "	2,0 "	dgl.	Tod 4 " " " "
8	0,08 "	" " "	1,0 "	"	Tod 8 " " " "
9	0,08 "	Schwere Symptome	0,8 "	"	Ziemlich schwere Symptome. Ueberlebt
10	0,08 "	Ziemlich schwere Symptome	0,8 "	"	Ziemlich schwere Symptome. Ueberlebt
11	0,08 ccm	Ziemlich schwere Symptome	5,0 ccm	$2\frac{1}{2}$ Std.	Tod 7 Min. nach der Injekt.
12	0,08 "	" " "	4,0 "	dgl.	Tod 6 " " " "
13	0,08 "	" " "	3,0 "	"	Tod 8 " " " "
14	0,08 "	" " "	2,5 "	"	Schwere Symptome. Ueberlebt
15	0,08 "	" " "	2,0 "	"	Leichte Symptome. Ueberlebt
16	0,08 ccm	Ziemlich schwere Symptome	5,0 ccm	24 Std.	Tod 4 Min. nach der Injekt.
17	0,08 "	" " "	4,0 "	dgl.	Tod 3 " " " "
18	0,08 "	" " "	3,0 "	"	Tod $7\frac{1}{2}$ " " " "
19	0,08 "	" " "	3,0 "	"	Schwere Symptome. Ueberlebt
20	0,08 "	" " "	2,0 "	"	Ziemlich leichte Symptome. Ueberlebt

D. l. m. also auch desto größer wird, ist an und für sich nicht mehr, als man von vornherein erwarten konnte. Wenn die Ananaphylaxie vom Verbrauch oder der Neutralisierung des Antistoffes herrührt, ist es selbstverständlich, daß die absolute Größe der desensibilisierenden Dosis von großer Bedeutung ist, da man vermuten muß, daß eine größere Menge Antigen eine größere Menge Antistoff neutralisieren

oder absorbieren kann. Bei hoch sensibilisierten Tieren ist es aber nicht möglich, eine intravenös eingeführte Antigendosis über eine gewisse, sehr geringe absolute Menge heraufzubringen. Man kann deshalb der D. l. m. sehr nahekommen, ohne deshalb mehr als eine eben meßbare Wirkung hervorzurufen.

Ein anderes Verhältnis wirkt indessen in gleicher Richtung, ein Verhältnis, das mir erst durch eine nähere Untersuchung der Verhältnisse zwischen passiv hervorgerufener Sensibilität und Antistoffmenge bekannt wurde. Es zeigte sich nämlich bald, daß eine Verdoppelung und Verdreifachung usw. der Antistoffmenge nicht eine Erhöhung der Sensibilität zum Zwei-, Dreifachen usw. proportional mit der Erhöhung der Antistoffmenge mit sich führt. Dies wird am besten durch die hinzugefügte Kurve (Kurve 3, Versuch 10) veranschaulicht, die die Abhängigkeit der Sensibilität von der passiv eingebrachten Antistoffmenge zeigt. (Siehe Versuch 10 auf p. 238/39 und Kurve 3 auf p. 240.)

Die Sensibilität ist auf Kurve 3 (s. p. 240) aufgezeichnet, wo die angewandten Antiserummengen auf der Abszisse, der Sensibilitätsgrad auf der Ordinate abgesetzt ist.

Man sieht, daß die Sensibilität zuerst langsam wächst, darauf jäh steigt und endlich — nachdem sie die Zahl 1200 erreicht hat — nicht weiter zunimmt. Jedenfalls wurde keine Sensibilitätsvermehrung dadurch gefunden, daß die Antiserummenge von 2 auf 4 ccm stieg. Größere Mengen Antiserum ließen sich nicht anwenden, da die Meerschweinchen akut am injizierten Antiserum starben, wenn man über 4 ccm heranstieg. 4 ccm gaben übrigens auch bei 2 Tieren akuten Tod, so daß diese Tiere durch andere ersetzt werden mußten. Ob der letzte Teil der Kurve (von 2 bis 4 ccm Antiserum) wirklich als eine gleiche Linie parallel mit der Abszisse läuft, wie in meinem Versuch, ist wohl etwas zweifelhaft. Kleine Unterschiede können sich der Messung entzogen haben. Unter allen Umständen kann die Steigung in der Sensibilität nach dem Punkt, der der im 2 ccm Antiserum enthaltenen Antistoffmenge entspricht, als ganz unwesentlich angesehen werden.

Versuch 10.

Der Versuch wurde auf folgende Weise ausgeführt: 11. XII. 1913. 55 Meerschweinchen von ca. 400 g Gewicht wurden in 11 Gruppen eingeteilt, die je 5 Tiere enthielten. Alle Tiere innerhalb derselben Gruppe bekamen dieselbe Menge intravenös injiziert. Die injizierte Menge Antiserum betrug für jedes Tier in allen 11 Gruppen 0,1 bzw. 0,25, 0,5, 0,8, 1,0, 1,5, 1,8, 2,0, 2,5, 3,0 und 4,0 ccm. Die Sensibilität wurde nach 30 Stunden geprüft, da andere Versuche gezeigt hatten, daß an diesem Zeitpunkt nach der Sensibilisierung das Maximum der Sensibilität erreicht ist, und die Abnahme erst ein paar Tage später beginnt. Das angewandte Antiserum bestand aus einem Mischserum von 2 Kaninchen, die je mit einer Injektion von 2 ccm Pferdeserum intravenös und drei Injektionen von 3 ccm Pferdeserum intraperitoneal in Zwischenräumen von 5–6 Tagen zwischen den Injektionen behandelt worden waren. Das angewandte Antiserum präzipitierte Pferdeserum in Verdünnung 1:15 000.

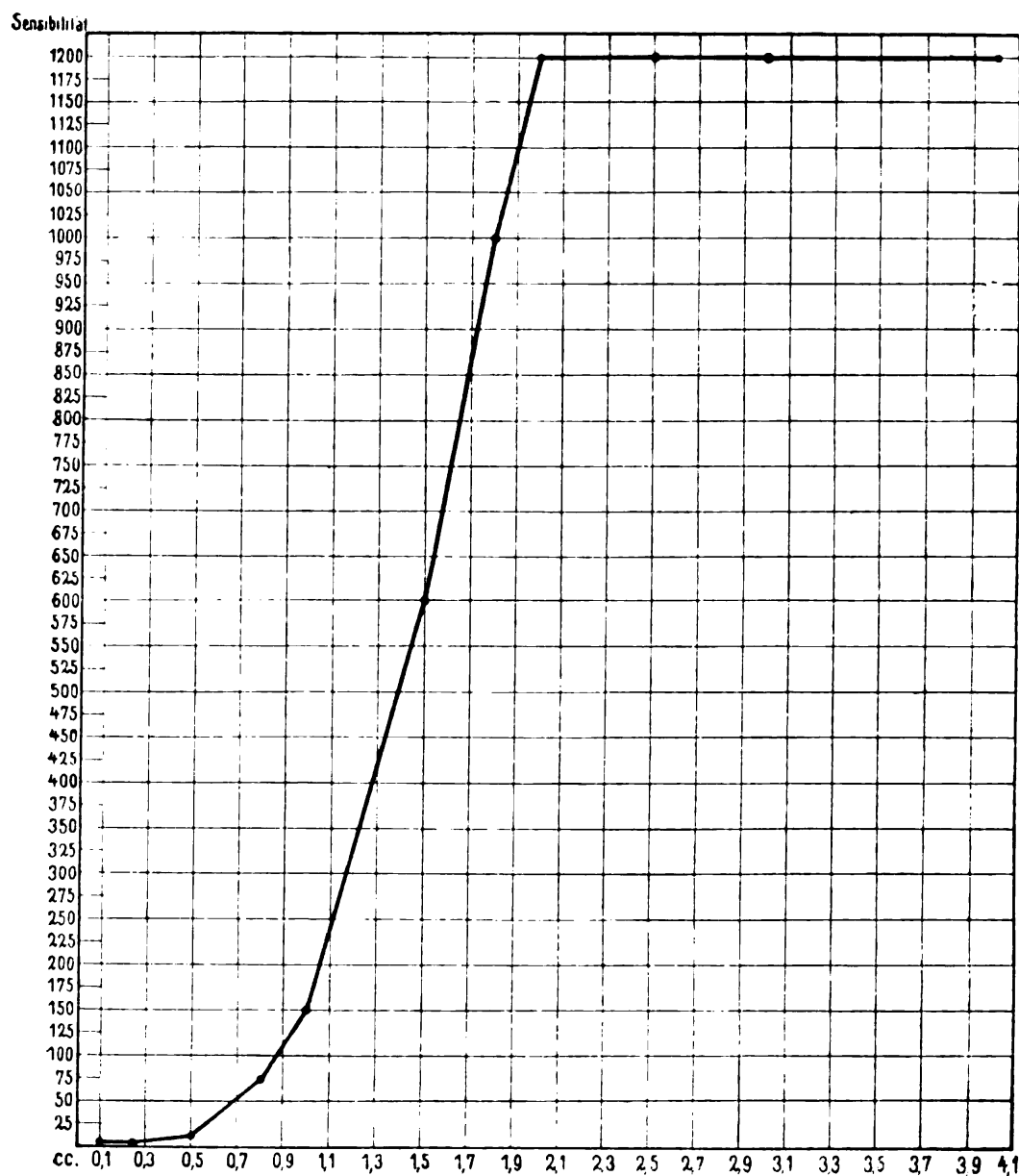
Der Versuch ergab folgendes Resultat.

Tier No.	Sensibilisierende Dosis Antiserum ccm	Reinjektion von Pferdeserum nach 48 Std. ccm	Resultat	Sensibilität
1	0,1	3,0	Tod 4 Min. nach der Injektion	3
2	"	2,0	Tod 6 " " " "	
3	"	2,0	Tod 4 " " " "	
4	"	1,5	Ziemlich krank. Ueberlebt	
5	"	1,0	Ziemlich leichte Symptome. Ueberlebt	
6	0,25	3,0	Tod 3 Min. nach der Injektion	4
7	"	2,0	Tod 7 " " " "	
8	"	1,5	Tod 5 " " " "	
9	"	1,0	Recht krank. Ueberlebt	
10	"	1,0	" " " "	
11	0,5	2,0	Tod 2 Min. nach der Injektion	15
12	"	1,0	Tod 4 " " " "	
13	"	0,5	Tod 6 " " " "	
14	"	0,4	Tod 5 " " " "	
15	"	0,3	Recht schwere Symptome. Ueberlebt	
16	0,8	0,2	Tod 3 Min. nach der Injektion	75
17	"	0,1	Tod 4 " " " "	
18	"	0,08	Tod 5 " " " "	
19	"	0,07	Schwere Symptome. Ueberlebt	
20	"	0,06	" " " "	
21	1,0	0,08	Tod 4 1/2 Min. nach der Injektion	150
22	"	0,06	Tod 6 " " " "	
23	"	0,04	Tod 7 " " " "	
24	"	0,03	Schwere Symptome. Ueberlebt	
25	"	0,03	" " " "	

Tier No.	Sensibilisierende Dosis Antiserum ccm	Reinjektion von Pferdeserum nach 48 Std. ccm	Resultat	Sensibilität
26	1,5	0,04	Tod 3 Min. nach der Injektion	600
27	"	0,03	Schwere Symptome ¹⁾ . Ueberlebt	
28	"	0,03	Tod 4 Min. nach der Injektion	
29	"	0,02	Tod 5 1/2 " " " "	
30	"	0,01	Tod 5 " " " "	
31	1,8	0,01	Tod 4 Min. nach der Injektion	1000
32	"	0,008	Tod 5 " " " "	
33	"	0,006	Tod 6 " " " "	
34	"	0,005	Schwere Symptome. Ueberlebt	
35	"	0,004	Mittelschwere Symptome. Ueberlebt	
36	2,0	0,006	Tod 5 Min. nach der Injektion	1200
37	"	0,005	Tod 4 1/4 " " " "	
38	"	0,005	Tod 7 " " " "	
39	"	0,004	Schwere Symptome. Ueberlebt	
40	"	0,004	" " "	
41	2,5	0,005	Tod 6 Min. nach der Injektion	1200
42	"	0,004	Schwere Symptome. Ueberlebt	
43	"	0,004	" " "	
44	"	0,003	Mittelschwere Symptome. Ueberlebt	
45	"	0,003	Leichte Symptome. Ueberlebt	
46	3,0	0,005	Tod 2 Min. nach der Injektion	1200
47	"	0,005	Tod 4 " " " "	
48	"	0,004	Schwere Symptome. Ueberlebt	
49	"	0,004	Recht schwere Symptome. Ueberlebt	
50	"	0,004	Sehr schwere Symptome. Ueberlebt	
51	4,0	0,005	Tod 3 1/2 Min. nach der Injektion	1200
52	"	0,004	Sehr schwere Symptome. Ueberlebt	
53	"	0,004	Schwere Symptome. Ueberlebt	
54	"	0,003	Recht schwere Symptome. Ueberlebt	
55	"	0,003	Schwere Symptome. Ueberlebt	

Wie besonders von Doerr hervorgehoben wird und ich voll bestätigen kann (Versuch, der hier nicht näher erwähnt werden soll), wird der Gehalt an Präzipitin und Anaphylaxieantistoff im Kaninchenserum sehr genau zusammenpassen, möglicherweise sind die beiden Funktionen sogar nur ein verschiedener Ausschlag eines einzelnen Antistoffes, und man wird

1) Dieses Tier zeigt eine eigentümliche Resistenz, die aus der Reihe zu fallen scheint. Alle übrigen Tiere derselben Gruppe starben, auch das mit 0,01 ccm injizierte. Man irrt sich aber kaum, wenn man 0,01 ccm als sehr nahe D. l. m. ansieht.



Kurve 3 (Versuch 10).

Antiserum	D. l. m.	Sensibilität
0,1 ccm	2,0 ccm	3
0,25 "	1,5 "	4
0,5 "	0,4 "	15
0,8 "	0,08 "	75
1,0 "	0,04 "	150
1,5 "	0,01 "	600
1,8 "	0,006 "	1000
2,0 "	0,005 "	1200
2,5 "	0,005 "	1200
3,0 "	0,005 "	1200
4,0 "	0,005 "	1200

deshalb immer ein gutes Maß für die anaphylaxieüberführende Fähigkeit eines Antiserums in seinem Präzipitingehalt haben. Man muß nicht erwarten, Kurve 3 durch Anwendung eines beliebigen Antiserums genau reproduzieren zu können, ohne daß es eben denselben Präzipitingehalt wie das hier angewandte besitzt. Ist ein Antiserum z. B. halb so reich an Antistoff wie das hier benützte, so wird man nicht ganz das gleiche Resultat erhalten, wenn man es in doppelt so großen Mengen wie das zu Kurve 3 benützte anwendet, weil in allen Seren, und wohl besonders im Kaninchenserum, Funktionen gefunden werden, die antagonistisch auf die Sensibilisierung wirken (wird später näher erwähnt) und dies wird also das Resultat etwas ändern. Im großen und ganzen meine ich jedoch, daß man berechtigt ist, die Kurve der Beurteilung der desensibilisierenden Wirkung der Entfernung einer gewissen Menge Antistoff sowohl bei aktiver wie bei passiver Anaphylaxie zugrunde zu legen. Wird so viel Antistoff entfernt (durch Injektion einer subletalen Antigendosis), wie er z. B. dem Gehalt in 0,2 ccm des in meinem Beispiel angewandten Antiserums entspricht, so wird man sehen, daß die Wirkung nach der Stelle der Kurve, an der man sich befindet, ziemlich verschieden ist. Auf dem ganzen wagerechten Stück der Kurve (von 2—4 ccm Antiserum) wird man überhaupt keine Sensibilitätsabnahme durch Entfernung von Antistoff erreichen. Von der Grenze (2 ccm Antiserum entsprechend) wird die Entfernung der 0,2 ccm Antiserum entsprechenden Menge Antistoff folgende Wirkung haben:

Die Sensibilität wird herabgesetzt:

von 1200	auf 1000	von 330	auf 150
„ 1000	„ 730	„ 150	„ 75
„ 730	„ 512	„ 75	„ 30
„ 512	„ 330	„ 30	„ 10

Den angeführten Sensibilitätsgraden entsprechen folgende Größen der D. l. m.:

ccm	ccm	Unterschied
0,005	0,006	0,001
0,006	0,008	0,002
0,008	0,012	0,004
0,012	0,018	0,006
0,018	0,04	0,022
0,04	0,08	0,04
0,08	0,2	0,12
0,2	0,6	0,4

Die Wegnahme einer gegebenen Menge Antistoff auf dem obersten Teil der Kurve wird die D. l. m. nur verhältnismäßig wenig vergrößern, wogegen dieselbe Wegnahme am untersten Teil eine sehr ausgesprochene Steigerung der D. l. m. zur Folge haben wird. Hierdurch werden ohne Zweifel viele der anscheinend entgegengesetzten Angaben in der Literatur über die Wirkung einer desensibilisierenden Injektion erklärt, gleich wie auch meine eigenen vorher angeführten Versuche dadurch leicht verständlich werden. Wie bereits erwähnt, wird die Wirkung von z. B. $\frac{D. l. m.}{2}$ desto weiter vermehrt, je niedriger man auf der Kurve ist, weil die desensibilisierende Wirkung einer Antigeninjektion selbstverständlich auch in hohem Grad von der absoluten Größe der Antigenmenge abhängig ist.

Die Reaktion zwischen Antigen und Antistoff geht augenscheinlich überaus schnell vor sich. Hierauf deutet das beinahe momentane Eintreten der shockartigen Symptome nach der intravenösen Antigeninjektion. Wenn die desensibilisierende Wirkung einer subletalen Dosis Antigen in meinen vorher angeführten Versuchen nach $2\frac{1}{2}$ Stunden deutlich mehr ausgesprochen war als nach 20 Minuten, ist dies gewiß nur zum Teil ein Beweis dafür, daß die desensibilisierende Wirkung einer gegebenen Antigenmenge größer wird, wenn die Reaktionszeit vermehrt wird. Wahrscheinlich beruht der Umstand, daß die Sensibilitätsherabsetzung nach 20 Minuten nur verhältnismäßig klein ist, darauf, daß die angewandte Antigendosis so nahe bei (die Hälfte) der letalen lag, daß die Tiere bei der 2. Reinjektion, 20 Minuten nach der ersten, noch so geschwächt waren, daß die leichteren einer Antigen-Antistoffreaktion unterlagen, die nach Verlauf von $2\frac{1}{2}$ Stunden getragen werden, d. h. wenn sie sich wieder vom Shock erholt haben. Dies wird durch folgende Versuche wahrscheinlich gemacht:

Versuch 11.

3. II. 1914. 15 Meerschweinchen von 400—425 g Gewicht wurden je mit 0,1 ccm Serum sensibilisiert. 20 Tage später wurde (an Tieren No. 1—5)

D. l. m. durch intravenöse Injektion bestimmt. Der Rest der Tiere bekam

$\frac{D. l. m.}{2}$ intravenös, und nach 20 Minuten bzw. $2\frac{1}{2}$ Stunden wurde die Sensibilität geprüft.

Meersch. No.	Dosis bei der 1. Reinjektion 20 Tage nach der Sensibilisierung	Symptome	Dosis bei der 2. Reinjektion	Intervall zwischen der 1. u. 2. Reinjektion	Symptome
1	0,4 ccm	Tod 5 Min. nach der Injekt.			
2	0,3 "	Tod $6\frac{1}{2}$ " " " "			
3	0,2 "	Tod 5 " " " "			
4	0,15 "	Schwere Symptome. Ueberlebt			
5	0,1 "	Mittelschwere Symptome. Ueberlebt			
6	0,02 ccm	Unbedeutende Symptome, schnell vorübergehend	1,0 ccm	20 Min.	Tod 5 Min. nach der Injekt.
7	0,02 "	dgl.	0,8 "	dgl.	Tod 6 " " " "
8	0,02 "	dgl.	0,7 "	"	Tod 12 " " " "
9	0,02 "	dgl.	0,6 "	"	Schwere Symptome. Ueberlebt
10	0,02 "	dgl.	0,5 "	"	Ziemlich schwere Symptome. Ueberlebt
11	0,02 ccm	Unbedeutende Symptome, schnell vorübergehend	1,0 ccm	$2\frac{1}{2}$ Std.	Tod $7\frac{1}{2}$ Min. nach der Injekt.
12	0,02 "	dgl.	0,8 "	dgl.	Tod 2 " " " "
13	0,02 "	dgl.	0,7 "	"	Sehr schwer krank. Tod $1\frac{1}{2}$ Std. nach der Injektion
14	0,02 "	dgl.	0,6 "	"	Ziemlich schwere Symptome. Ueberlebt
15	0,02 "	dgl.	0,6 "	"	Mittelschwere Symptome. Ueberlebt

$\frac{D. l. m.}{2}$ ruft hier nur unbedeutende und vorübergehende Symptome hervor. Nach 20 Minuten sind die Tiere, jedenfalls augenscheinlich, ganz über die Wirkung der 1. Reinjektion hinweggekommen. Der Grad der Ananaphylaxie ist 2 Stunden nach der Injektion nicht stärker als nach 20 Minuten. Daß die Ananaphylaxie im ganzen schwächer ausgesprochen ist als im entsprechenden Versuch, ist offenbar eine Folge davon, daß die desensibilisierende Dosis hier nur 0,02 ccm betrug, während sie im Versuch 0,08 ccm betrug.

Daß die Desensibilisierung infolge der Antigen-Antistoffreaktion sehr schnell vor sich gehen muß, geht aus dem hervor, was schon in der Literatur vorliegt. Wie vorn angeführt, hat bereits Besredka erwähnt, daß man Meerschweinchen desensibilisieren kann, indem man sie in kurzen Zwischenräumen intravenös injiziert, zuerst mit halb tödlicher Dosis und darauf beständig steigenden Dosen, bis das Tier eine viele Male tödliche Dosis verträgt. Die Injektionen können sogar so schnell nacheinander vorgenommen werden, daß es nicht nötig ist, die Kanüle zwischen den Injektionen aus der Vene herauszunehmen. Noch weiter sind Friedberger und Mita gegangen, indem sie durch kontinuierliches Injizieren des Antigens in sehr langsamem Strom sensibilisierte Tiere dazu bringen konnten, bis zu 10mal D. l. m. zu vertragen. Wenn die Injektionszeit bis auf 1 Stunde ausgedehnt wurde, konnten die Tiere wenigstens 10mal D. l. m. vertragen. Ganz ähnliche (nicht publizierte) Versuche hatte ich schon vor dem Erscheinen von Friedberger und Mitas Arbeit angestellt und war zum selben Resultat gelangt. Es ist deshalb unnötig, die Versuche hier detailliert anzuführen. Nur will ich hervorheben, daß wie bei allen anderen Desensibilisierungsversuchen auch hier der Grad der Sensibilität eine große Rolle spielt. Je stärker die Tiere sensibilisiert sind, desto langsamer muß die Injektion vorgenommen werden, wenn man es erreichen will, eine bestimmte Anzahl von D. l. m. geben zu können, ohne das Tier zu töten. Eine allgemein geltende Regel dafür, daß eine gewisse Anzahl tödlicher Dosen eine näher angegebene Injektionszeit erfordert, läßt sich also nicht aufstellen. Als praktische Konsequenz der Bedeutung der langsamen Injektionsweise folgt natürlich, wie auch von Friedberger und Mita hervorgehoben ist, daß, wenn das Serum intravenös mit therapeutischem Ziel an schon vorher Serumbehandelte gegeben wird, sehr langsam injiziert werden muß, was sich am besten durch Verdünnung des Serums und durch Gebrauch des von Friedberger und Mita konstruierten Apparates machen läßt.

Was die anderen Formen von Anaphylaxie, die vorn genannt sind, betrifft, soll zuerst erwähnt werden:

2. Die Ananaphylaxie als Folge eines Hindernisses für die Reaktion zwischen Antigen und Antistoff

Wie überall bei der Reaktion zwischen Antigen und Antistoff ist das Milieu ein Faktor von Bedeutung. Bei unzureichendem Milieu kann die Vereinigung verhindert oder sogar ganz aufgehoben werden. Dieser Gesichtspunkt muß wohl bei der Beurteilung der Wirkungsweise von mehreren der Eingriffe, die angeblich die Resistenz des Tieres gegenüber dem Antigen vermehren kann, zugrunde gelegt werden. Von solchen Eingriffen können genannt werden:

Die Bedeutung von narkotischen Stoffen. Nach Angaben von Besredka¹⁾, die später von anderen bekräftigt wurden, sind sensibilisierte Meerschweinchen unter universeller Narkose mit Aether, Chloroform, Chloräthyl, Urethan und zum Teil Chloral ananaphylaktisch. Von Rosenau und Anderson²⁾ ist dies jedoch bestritten worden, da diese Verfasser behaupten, daß man durch die Narkose nur ein Unterdrücken der Symptome: Krämpfe, Husten usw. herbeiführen kann, daß aber die Tiere mit der Narkose ebenso krank sind wie ohne dieselbe.

Es ist klar, daß diese Frage nur durch Messen der D. l. m. bei einer Gruppe gleichartig sensibilisierter Tiere teils ohne, teils mit Narkose entschieden werden kann. Da die Frage nicht bloß zur Beleuchtung des Einflusses der Narkotika auf die Sensibilität von Interesse ist, sondern vermeintlich auch für alle übrigen unspezifischen Eingriffe, die (relative) unspezifische Ananaphylaxie oder Resistenz geben, werden meine Versuche hierüber angeführt.

Versuch 12.

26. II. 1913. 10 Meerschweinchen, Gewicht 340—400 g, wurden je mit 0,004 ccm Serum sensibilisiert. Die Sensibilität wurde am 24. Tage (Tiere No. 1—5) ohne Narkose bestimmt. Die übrigen 5 Tiere wurden in tiefe Aethernarkose gebracht; nachdem diese 5 Minuten gedauert hatte, wurde das Antigen intravenös injiziert. Nach der Injektion wurde die Narkose noch 5 Minuten lang unterhalten, d. h. insofern die Tiere nicht schon tot waren.

1) Ann. Pasteur, 1907, p. 957.

2) Hyg. Labor. Washington, Bull. 1908, No. 45, und 1909, No. 50.

Tier No.	Reinjektion von Antigen ccm	Symptome
ohne Narkose	1 0,05	Tod 4 Min. nach der Injektion
	2 0,04	Tod 6 $\frac{1}{2}$ „ „ „ „
	3 0,03	Tod 7 „ „ „ „
	4 0,025	Sehr schwere Symptome. Tod 1 $\frac{1}{2}$ Std. nach der Injektion
	5 0,02	Schwere Symptome. Ueberlebt
unter Narkose	6 0,1	Tod 5 Min. nach der Injektion. Keine Krämpfe. Respiration mehr und mehr oberflächlich, bis sie ganz aufhörte
	7 0,05	Tod 6 Min. nach der Injektion. Symptome wie No. 6
	8 0,035	Tod 7 $\frac{1}{2}$ „ „ „ „ No. 6
	9 0,03	Respiration nach der Injektion beschwerlich. Keine Krämpfe. Ueberlebt
	10 0,025	Wie No. 9

Man sieht daraus, daß die Narkose bei den ziemlich stark sensibilisierten Tieren (D. l. m. ca. 0,03, Sensibilität 200) einen nur ganz überaus geringen Einfluß auf die D. l. m. hat. Der beobachtete Unterschied: D. l. m. ohne Narkose 0,03, mit Narkose 0,035, ist ein so kleiner, daß es jedenfalls nur eben darüber hinausgeht, was von Zufällen herrührt. Die Krämpfe hörten wohl unter der Narkose auf, die Respirationsbeschwerde war aber deutlich, obgleich nicht von dem eigentümlichen spastischen Charakter, der sonst für den anaphylaktischen Shock charakteristisch ist.

Eine weit größere Wirkung der Narkose wird bei schwächer sensibilisierten Tieren beobachtet (siehe Versuch 13 auf p. 247).

Diese Tiere, die bedeutend größer und älter (850—900 g) waren, als die im vorigen Versuch verwendeten, waren auch bei weitem weniger stark sensibilisiert (vergleiche frühere Angaben), indem D. l. m. ohne Narkose 0,4—0,35 ccm betrug. Während der Aethernarkose wird 5—6-mal die D. l. m. ohne besondere gefahrdrohende Symptome vertragen (auch der Temperaturfall ist verhältnismäßig gering und rührt vielleicht sogar zum Teil von der Narkose selbst her). Ich war ursprünglich geneigt, zu glauben, daß die Narkose nur die großen (älteren) Tiere resistenter machte, ohne daß ich mir aber den Grund erklären konnte. Spätere Versuche zeigten aber, daß, wenn kleinere Tiere (550—400 g) schwach sensibilisiert waren, z. B. so, daß D. l. m. ungefähr 0,3 ccm

Versuch 13.

10 Meerschweinchen mit einem Gewicht von 850—900 g werden je mit 0,004 ccm Serum sensibilisiert. Die Sensibilität wird am 20. Tage (Tiere No. 1—5) bestimmt. Die übrigen 5 Tiere werden in Aethernarkose gebracht, und während derselben wird das Antigen 5 Minuten, nachdem tiefe Narkose eingetreten ist, intravenös injiziert; danach wird die Narkose noch weitere 5 Minuten fortgesetzt.

Tier No.	Reinjektion von Antigen ccm	Symptome
ohne Narkose	1 0,8	Tod 6 Min. nach der Injektion
	2 0,6	Tod 7 „ „ „ „
	3 0,4	Tod 9 1/2 „ „ „ „
	4 0,35	Sehr schwere Symptome. Tod 1 Std. nach der Injektion
	5 0,3	Ziemlich schwere Symptome. Ueberlebt
unter Narkose	6 3	Tod 8 Min. nach der Injektion während einer Respirationsstockung. Keine Krämpfe
	7 2	Respiration forziert in den ersten Minuten nach der Injektion. Temperaturfall 3,1°. Ueberlebt
	8 1,5	Ueberlebt. Etwas schnelle und oberflächliche Respiration. Temperaturfall 1,5°
	9 1	Respiration etwas beschleunigt. Temperaturfall 1,3°. Ueberlebt
	10 0,8	Keine rein anaphylaktische Symptome. Temperaturfall 0,8°. Ueberlebt

betrug, diese von der Narkose ganz entsprechend wie die großen Tiere beeinflußt wurden, selbst wenn die Sensibilität vielleicht knapp so viel herabgesetzt wird. Wenn man — ausnahmsweise — aktiv hoch sensibilisierte große Tiere finden sollte, würden diese wahrscheinlich während der Narkose verhältnismäßig ebensowenig resistent sein, wie kleinere Tiere mit derselben Sensibilität.

Dies ist leicht verständlich, wenn man sich an Kurve 3 erinnert. Wenn man sich vorstellt, daß die Wirkung der Narkose darin besteht, eine gewisse Menge Antistoff wegzunehmen, wird die Wirkung ganz davon abhängen, auf welcher Stelle der Kurve man sich befindet, wie es ausführlich im vorhergehenden erwähnt ist. Jetzt kann man sich nur schlecht denken, daß während der Narkose eine gewisse Menge Antistoff destruiert wird. Dies ist allein bei einzelnen Versuchen, die ich gemacht habe, ausgeschlossen; sie zeigen, daß 24—48 Stunden nach der Narkose jede Resistenzver-

mehrung verschwunden ist, und da es wohl kaum wahrscheinlich ist, daß eventuell zugrunde gegangener Antistoff eben in der gleichen Menge regeneriert sein sollte, ist die Erklärung vermutlich weit eher die, daß die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen Antigen und Antistoff während der Narkose herabgesetzt wird, vielleicht infolge der Einwirkung des narkotischen Mittels auf die Lipoide im Gewebe und Blut. Der anaphylaktische Shock ist indessen ein Ausdruck dafür, daß Antigen und Antistoff sich sozusagen augenblicklich vereinigen. Das kann durch eine kleine Antigen-dosis nur erreicht werden, wenn das Tier eine hohe Konzentration von Antistoff besitzt. Ist die Antistoffmenge klein, so braucht man eine große Antigen-dosis. Dies sind ja nur andere Ausdrücke dafür, daß die D. l. m. bei großer Antistoffmenge klein, bei kleiner Antistoffmenge groß ist. Daß die Reaktionsgeschwindigkeit von großer Bedeutung ist, geht deutlich genug daraus hervor, daß man durch langsames Injizieren des Antigens die D. l. m. bedeutend vermehren kann (siehe vorn). Wird jetzt die Reaktionsgeschwindigkeit herabgesetzt, so kann die jähe Vereinigung, die die Voraussetzung des Shocks ist, nur durch Erhöhung der Antigen-dosis zustande kommen, da die Antistoffmenge ja unverändert ist. Ein Herabsetzen der Reaktionsschnelligkeit wird dann ganz wie eine Wegnahme des Antistoffes wirken, wodurch D. l. m. ja auch erhöht wird. Daß eine solche Beseitigung aber eine verschieden starke Wirkung hervorruft und zwar der Stelle an der Kurve entsprechend, an der man sich befindet, ist oft genug im vorhergehenden erwähnt worden. Möglicherweise können die genannten Narkotika eine zugleich shockvermindernde Wirkung dadurch ausüben, daß sie den Einfluß derjenigen Zellen, die sonst durch die Antigen-Antistoff-Reaktion auf deletäre Weise beeinflußt werden, herabsetzen (siehe übrigens Näheres hierüber unter 3.).

Unter 2. muß vermeintlich gleichfalls eine vorausgehende Injektion der Peptonlösung eingerechnet werden. Dies führt sowohl bei Hunden als auch bei Meerschweinchen einen anaphylaxieähnlichen Shock mit sich, nach welchem sensibilisierte Tiere weniger antigenbeeinflussbar [Biedl und

Kraus¹⁾] sein sollen. Ferner Injektion von stark hypertonischen NaCl-Lösungen in die Blutbahn [Friedberger und Hartoch²⁾], von Urin, besonders während des anaphylaktischen Shocks [H. Pfeiffer³⁾] genommen, Guanidinchlorid [v. d. Heyde⁴⁾] und Trypsin [Kirchheim⁵⁾]; gleichfalls vielleicht CaCl und KClO₃ in wässriger Lösung. Auch längeres Hungern vor der Reinjektion von Antigen [Konstansoff⁶⁾] soll die Sensibilität bei anaphylaktisierenden Tieren herabsetzen. Dasselbe gilt bei starker Abkühlung in kaltem Wasser [Friedberger und Kumagai⁷⁾].

Dagegen beruht der anaphylaxievermindernde Einfluß durch Bestrahlung mit Röntgenstrahlen [v. Heinrich⁸⁾] oder Infektion mit Tuberkelbacillen gleichzeitig mit der Sensibilisierung [E. Seligmann⁹⁾] vermutlich auf mangelhafter Produktion von Antistoff, als Folge der genannten Einwirkungen. Die Röntgenbestrahlung bei im voraus sensibilisierten Tieren kurz vor der Reinjektion war ohne Wirkung.

Gemeinsam für die unter 2. genannten Agentien ist ihre unspezifische Wirkung, d. h. diese sind nicht gegen die Sensibilisierung mit einem bestimmten Antigen gerichtet. Die Sensibilität wird ebensowohl bei Tieren, die z. B. mit Pferdeserum, als bei solchen, die mit Hühnereiweiß sensibilisiert worden sind, herabgesetzt. Im Gegensatz hierzu ist die unter 1. genannte Anaphylaxie im selben Sinn spezifisch wie jede Antigen-Antistoffreaktion, das will in diesem Fall sagen, daß die Wirkung einer gegebenen (kleinen) Antigen-

1) Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 11.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, und Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 36.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911.

4) Zit. nach Doerr's Uebersichtsartikel, l. c. p. 1079.

5) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 74, 1913, Heft 5.

6) Compt. rend. Soc. Biol., T. 72, 1912, No. 7.

7) In Friedberger und Mitas Artikel in der Deutschen med. Wochenschr., 1912, No. 5.

8) Mündliche Mitteilung an Doerr, siehe dessen Uebersichtsartikel, l. c. p. 1019.

9) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912, Heft 4.

dosis um vieles größer ist gegenüber dem homologen Antistoff als gegenüber einem heterologen. Durch Anwendung genügend großer Mengen Serum kann man selbstverständlich auch die heterologen Antistoffe beeinflussen. Möglicherweise wird das Einbringen von bedeutenden Mengen artfremden Serums in den Kreislauf zugleich sensibilitätsherabsetzend wirken, durch Verminderung der Reaktionsgeschwindigkeit zwischen dem Antigen und dem Antistoff. Dies muß in Betracht gezogen werden, wenn man passiv mit großen Mengen von antistoffarmem heterologen Serum sensibilisiert. Die erreichte Sensibilität entspricht dann vielleicht nicht der Antistoffmenge, weil ihr vom artfremden Serum als solchem entgegengearbeitet wird (vergleiche vorne). Bessau hat in mehreren Arbeiten die Anschauung geäußert, daß die Anaphylaxie im ganzen auf unspezifischen Prozessen beruht und von keiner Antikörperabsorption durch Hilfe des homologen Antigens herrührt. Bessaus¹⁾ erste Arbeit leidet indessen, wie bereits von Friedberger²⁾ und dessen Mitarbeiter hervorgehoben wurde, an so wesentlichen technischen Mängeln, daß Bessaus Schlüsse allein aus dem Grund unhaltbar sind. In einer späteren Arbeit, die er mit H. Opitz und O. Preussen zusammen verfaßte, behauptet Bessau³⁾ von neuem, daß die Anaphylaxie auf keiner spezifischen „Antistoffabsorption“ beruht, sondern wesentlich ein unspezifischer Prozeß sei. Bessaus Standpunkt, der im ganzen etwas unklar scheint, basiert darauf, daß Tiere, die gleichzeitig mit zwei Seris (Pferd und Schaf) sensibilisiert worden sind, ungefähr in ebenso hohem Grad den beiden angewandten Antigenen gegenüber durch Injektion einer subletalen Dosis des einen desensibilisiert werden. Diese letzten Versuche, die scheinbar mit einer unangreifbaren Technik durchgeführt sind, haben jedoch kaum eine allgemeine Gültigkeit. In Versuchen, die später veröffentlicht werden sollen, habe ich jedenfalls ganz andere Resultate erhalten.

Andere Eigentümlichkeiten bei den unter 2. genannten sensibilitätsherabsetzenden Faktoren sind ihre verhältnis-

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 60, 1911.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912.

3) Centralbl. f. Bakt., Bd. 74, 1914.

mäßig geringe Stärke und die kurze Dauer der Wirkung. Nach Verlauf von höchstens ein paar Tagen hat die Wirkung aufgehört, im Gegensatz zu der bei der Antistoff-sättigung hervorgerufenen Ananaphylaxie, die sich beständig oder doch sehr lange Zeit hält (nämlich bis neue Antistoffe eventuell neugebildet sind).

Endlich muß noch eine eigentümliche Form von Ananaphylaxie genannt werden, die wohl in die mit 2. bezeichnete Gruppe gehört. Bei Meerschweinchen, die in der präanaphylaktischen Periode oder im ananaphylaktischen Zustand bedeutendere Mengen Antigen injiziert erhalten haben, entwickelt sich keine oder nur eine schwache Sensibilität, trotzdem solche Tiere Anaphylaxieantistoff im Blut haben, was daraus hervorgeht, daß Serum passiv Anaphylaxie mitteilen kann. Dies eigentümliche Phänomen wurde zuerst von Otto nachgewiesen und ist später Gegenstand für Untersuchungen verschiedener Autoren gewesen, unter anderen von Weil¹⁾. Weil, der meint, daß der anaphylaktische Shock von einer Vereinigung zwischen dem Antigen und den „sessilen Rezeptoren“ in den Zellen herührt, erklärt die ausbleibende Sensibilität unter den genannten Umständen damit, daß der Antistoff im Blut ablenkend wirkt, also auf ähnliche Weise wie ein Antitoxin, indem es sich mit dem Antigen verbindet, bevor dies den Antistoff der Zellen (sessile Rezeptoren) erreicht. Diese Erklärung, die im ersten Augenblick als wahrscheinlich anmutet, ist jedoch kaum richtig. Bei einem Teil von meinen Versuchen, die anderenorts näher erwähnt werden sollen, zeigte es sich, daß eine Einfuhr selbst von bedeutenden Mengen antistoffhaltigen Serums direkt in den Kreislauf bei im voraus aktiv sensibilisierten Meerschweinchen die Sensibilität nicht herabsetzte oder jedenfalls doch nur so viel, wie dieselbe Menge normalen artsfremden Serums allein imstande war. Die Sensibilität wurde in diesen Versuchen natürlich gleich nach der Injektion des antistoffhaltigen Serums geprüft. Ich glaube deshalb, daß man eine andere Erklärung für diese eigentümliche Form von Ananaphylaxie suchen muß.

1) Journ. of med. Res., März 1913.

Man könnte sich denken daß es sich in diesen Fällen um eine ungünstige Wirkung handelte, ausgeübt durch einen Ueberschuß an Antistoff. Ganz unbekannt von anderen Immunitätsreaktionen ist es ja nicht, daß die Vermehrung der Antistoffmenge über einen gewissen Punkt hinaus nicht förderlich, sondern im Gegenteil hinderlich auf die Reaktion wirkt. Dies schien auch sofort durch Kurve 3 (Versuch 10) gestützt zu werden, aus der es hervorgeht, daß (passive) Vermehrung der Antistoffmenge keine höhere Sensibilität gibt, wenn ein bestimmter Punkt auf der Kurve (Sensibilität 1200) erreicht ist. Es tritt danach ganz gewiß kein Herabsinken der Sensibilität ein, aber ebensowenig eine Steigung, und es wäre ja möglich, daß die Kurve, wenn sie weiter fortgesetzt wäre — nach einem mehr oder weniger langen Stück parallel mit der Abszisse — einen Fall darbieten würde. In diesem Fall würde die ausgesprochene Sensibilität nach aktiver Sensibilisierung mit einer kleinen Dosis Antigen bedeuten, daß in den Zellen des sensibilisierten Tieres eine für die Reaktion zwischen Antigen und Antistoff günstige Menge von sessilen Rezeptoren gebildet wäre, während das Blut noch nicht oder nur in geringem Grad Antistoff enthält und darum nicht, oder nur sehr schwach, imstande ist, passive Anaphylaxie hervorzurufen. Bei bedeutender Antigenezufuhr (ob diese jetzt in der präanaphylaktischen oder in der anaphylaktischen Periode gegeben wird) könnte man sich denken, daß eine sehr reichliche Menge Antistoff gebildet würde, daß nun teilweise ein für die Reaktion zwischen Antigen und Antistoff ungünstiger Ueberfluß von sessilen Rezeptoren und zugleich freier Antistoff im Blut gefunden wurde. Hierdurch wird man eine Erklärung des augenscheinlich paradoxen Verhältnisses erhalten, daß das Blut solcher Tiere oft imstande ist, eine ausgesprochene passive Anaphylaxie mitzuteilen, während die Tiere selbst nur schwach sensibilisiert sind. Auch gegen diese Erklärung erheben sich jedoch bedeutende Schwierigkeiten, daß es mir bei Meerschweinchen mit ausgesprochener Fähigkeit, passive Anaphylaxie (selbst relativ wenig sensible) mitzuteilen, nie — trotz direkt darauf verwandter Aufmerksamkeit — gelang, ein Stadium mit steigender und darauf konstanter Sensibilität nachzuweisen, wie man es

unter der genannten Voraussetzung erwartet hätte. Man kann sich ja schwer denken, daß ein Ueberschuß von Antistoff auf einmal etabliert wird. Es ist deshalb vielleicht am wahrscheinlichsten, daß, wenn in Kurve 3 keine Zunahme der Sensibilität durch Vermehrung der Antistoffmenge über einen gewissen Punkt (Sensibilität 1200) hinauf beobachtet wird, dies daher rührt, daß eine gewisse Minimumsmenge von beiden Stoffen — Antigen und Antistoff — notwendig ist, um die Reaktion hervorzurufen, und daß man, wenn diese Minimumsmenge für den einen Stoff erreicht ist, in diesem Fall für das Antigen, den Mangel durch Vermehrung der Menge des anderen Komponenten, des Antistoffes, nicht kompensieren kann. Ein ähnliches Verhältnis ist uns von verschiedenen anderen Reaktionen bekannt, so können z. B. das Mittel- und Endstück im Komplement einander bis zu einem gewissen Grad ersetzen; hat man aber einen gewissen, niedrigen Wert des einen Komponenten erreicht, so nützt es nichts, wenn man den anderen vermehrt, es wird doch kein wirksames Komplement daraus gebildet. Die Hemmung in der Sensibilitätsentwicklung bei der aktiven Sensibilisierung mit sehr großen Antigendosen in der präanaphylaktischen oder ananaphylaktischen Periode rührt doch vielleicht eher daher, daß hierdurch außer dem Anaphylaxieantistoff andere Antistoffe produziert werden, oder andere physische Veränderungen in den antistoffproduzierenden Zellen eintreten, so daß die Reaktion zwischen dem Antigen und dem Antistoff durch diese parallel laufenden Prozesse gehindert wird. Man könnte sich sehr wohl solche quantitativen Verhältnisse denken, die dadurch zustande kommen, daß die Reaktion zwischen dem Antigen und dem sessilen Anaphylaxieantistoff, der ja vermutlich die Ursache des Shocks ist, verhindert wurde, während der im Serum vorhandene freie Anaphylaxieantistoff passiv Anaphylaxie von frischen Tieren, die nicht im Besitz solcher Hemmungsfunktionen waren, überführen konnte. Daß aktiv sensibilisierte Kaninchen — trotz bedeutenden Inhaltes von Anaphylaxieantistoff im Serum — oft stark sensibel sind, hindert nicht diese Auffassung, da man nicht ohne weiteres davon ausgehen kann, daß die Reaktionsbedingungen für Kaninchen und Meerschweinchen genau die gleichen sind.

Was jetzt endlich die dritte und letzte Gruppe von anaphylaxieherabsetzenden Einwirkungen betrifft:

3. die herabgesetzte Empfindlichkeit gegenüber dem durch die Vereinigung von Antigen und Antistoff entstandenen shockhervorrufenden Faktor („dem Gift“)

so kann ich mich hierüber sehr kurz fassen, indem ich meine, daß die Existenz dieser Gruppe in Wirklichkeit sehr zweifelhaft ist. Es ist im vorhergehenden gezeigt worden, daß sensibilisierte Tiere, die nach Reinjektion einer beinahe tödlichen Dosis von Antigen mit dem möglich heftigen Shock reagiert haben, bei der nächsten Reinjektion mit tödlichem Shock auf eine Antigendosis reagieren, die nicht wesentlich höher ist, als die vorige (davon abhängig, wie viel Antistoff die erste Reinjektion entfernt hat). Man kann kaum mit Recht behaupten, daß eine Herabsetzung der Beeinflussungsfähigkeit des Tieres vorhanden ist. Was die übrigen in der Literatur angeführten Beispiele betrifft, z. B. vermehrte Resistenz nach überstandenen Shock, als Folge von Injektion von Pepton, giftigem Urin usw., so scheinen diese am ehesten zur vorhergehenden Gruppe (2) zu gehören: die injizierte fremde Substanz kann ein Hindernis für die Vereinigung zwischen Antigen und Antistoff mit sich geführt haben.

Selbst nicht narkotisch wirkende Stoffe, wie Aether und Chloroform, die ja unter gewissen Umständen ohne Zweifel die Sensibilität herabsetzen (siehe vorne), können mit Sicherheit die Empfindsamkeit vermindern. Die Irritation der glatten Muskulatur, besonders in Gefäßen, Bronchien und Därmen, scheint für das Entstehen des Shocks eine bedeutende Rolle zu spielen, aber zurzeit ist es doch sehr zweifelhaft, daß Stoffe, wie Aether und Chloroform, die Irritabilität der glatten Muskulatur herabsetzen, und auf der anderen Seite muß hervorgehoben werden, daß Opium und Morphinum, nach dem, was in der Literatur vorliegt, nicht sensibilitäts-herabsetzend wirken, trotzdem die irritabilitätsvermindernde Wirkung dieser Stoffe auf die glatte Muskulatur ja unbestreitbar ist.

Ein Umstand scheint aber die Empfindlichkeit selbst herabzusetzen, nämlich die Zunahme des Gewichtes des Tieres,

jedenfalls über 7—800 g (siehe den vorigen Versuch). Falls man in der anaphylaktischen Noxe mit einem eigentlichen Gift zu tun hat, ist es an und für sich natürlich, daß die absolute Größe der D. l. m. mit dem Alter und der zunehmenden Größe des Tieres steigen muß. Ist der anaphylaktische Shock dagegen die Folge einer Vereinigung zwischen dem Antigen und dem Antistoff in den Zellen und den davon abhängigen physischen Veränderungen, so scheint eine solche Sensibilitätsherabsetzung weniger selbstverständlich. Auf der anderen Seite kann es nicht ausgeschlossen sein, daß mit dem Wachstum des Tieres Verhältnisse eintreten, die die „Avidität“ des Antistoffes vermindern und dadurch die Reaktionsgeschwindigkeit herabsetzen, und also diese Sensibilitätsherabsetzung unter 2. hinführt. Die Frage läßt sich zurzeit kaum endgültig abmachen.

Der anaphylaktische Zustand scheint jedenfalls ganz wesentlich seinen Grund in einem von den unter 1. und 2. erwähnten Ursachen zu haben, von welchen die erstere, der Verbrauch des Antistoffes, für die weitaus wirksamste angesehen werden muß.

Zusammenfassung.

Alle Untersuchungen sind mit Pferdeserum vorgenommen worden. Dieses stammte von einem einzigen Aderlaß und wurde steril in zugeschmolzenen Glasampullen aufbewahrt. Es ist zu allen Versuchen, sowohl zur Sensibilisierung wie zur Reinjektion dasselbe Serum benützt worden. Als Versuchstiere wurden Meerschweinchen angewandt. Die sensibilisierende Dosis ist stets subkutan gegeben, die Reinjektion immer intravenös vorgenommen. Die Sensibilität wurde durch Feststellen der kleinsten tödlichen Dosis (D. l. m.) festgesetzt.

Es zeigte sich, daß Tiere, die am selben Tage und mit derselben Dosis sensibilisiert wurden und also derselben Gruppe angehörten, sich sehr gleichartig in bezug auf die Sensibilität verhielten; dagegen kann ein bedeutender Unterschied bei den verschiedenen Tier-Gruppen vorhanden sein, selbst wenn die sensibilisierend Dosis dieselbe gewesen ist.

Möglicherweise kann die Ursache hierzu vom Einfluß der Jahreszeiten (und hierzu gehörenden Unterschied im Futter) auf die Produktion des Anaphylaxieantistoffes herrühren.

Eine sensibilisierende Dosis von 0,004 ccm gab schneller ein Maximum der Sensibilität, als eine Dosis von 0,1 ccm. Das mit 0,1 ccm Serum erreichte Maximum war nicht höher als das durch 0,004 ccm hervorgerufene.

Die Sensibilität hält sich nicht monate- und jahrelang unverändert, wie es oft in der Literatur angegeben ist, sondern nimmt nach erreichtem Maximum im Anfang jäh, später langsam ab. Diese spontane relative Ananaphylaxie ist ein kombiniertes Phänomen, das teils vom Verschwinden des Antistoffes im Lauf der Zeit herrührt, teils daher kommt, daß Meerschweinchen mit zunehmendem Alter und zunehmender Größe schwächer reagieren, selbst wenn die absolute Menge Antistoff nicht herabgesetzt ist.

Ganz junge Tiere (neugeborene oder wenige Tage alte) produzieren schwerer Antistoff als einige Monate alte (Gewicht 300–600 g) Tiere, wie schon Friedberger und Mita gezeigt haben. Ganz ausgewachsene (alte) Tiere von 8–900 g Gewicht bilden gleichfalls mangelhaften Antistoff.

Die Ananaphylaxie rührt von drei Ursachen her, deren Bedeutung in folgender Reihenfolge abnimmt: 1) Verbrauch (oder Ausscheidung) von Anaphylaxieantistoff, 2) Hindernis für die Reaktion zwischen Antigen und Antistoff, 3) herabgesetzte Empfindlichkeit gegenüber dem shockhervorrufenden Agens selbst („dem Anaphylaxiegift“).

Mit Bezug auf 1) wird festgestellt, daß die desensibilisierende Wirkung einer Antigendosis in hohem Grad vom bestehenden Sensibilitätsgrad abhängig ist. Die Abhängigkeit der Sensibilität von der Antistoffmenge wird durch Sensibilisierungsversuche mit fertiggebildetem Antistoff (passive Sensibilisierung) festgestellt. Das Resultat ist in der Kurvenform (Kurve 3) aufgezeichnet. Aus der Kurve geht hervor, daß die Sensibilität durch eine zunehmende Menge Antistoff zuerst langsam, dann stärker steigt, um schließlich jäh ihr Maximum zu erreichen, so daß weitere Zufuhr von Antistoff die Sensibilität nicht erhöht. Hieraus folgt, daß die desensibili-

sierende Wirkung einer subletalen Antigendosis nach der Stärke der bestehenden Sensibilität bedeutend variieren kann. Wenn eine gegebene Antigendosis eine bestimmte Menge Antistoff entfernt, wird, bevor die niedrigste Grenze für die maximale Sensibilität erreicht ist, diese Antigendosis überhaupt keine meßbare Wirkung auf die Sensibilität haben. Die Wirkung wird danach zunehmen und sich am größten an dem Teil der Kurve, der zwischen einer Sensibilität 2–300 und 15 liegt, manifestieren, weil die Sensibilität an dem genannten Teil der Kurve verhältnismäßig meist von der anwesenden Antikörpermenge abhängig ist. Die Wirkung wird zugleich von der absoluten Größe der desensibilisierenden Dosis abhängen.

Mit Bezug auf 2) werden vermutlich solche Stoffe, wie gewisse Narkotika, Pepton, Urin usw., durch Herabsetzen der Reaktionsgeschwindigkeit zwischen Antigen und Antistoff ananaphylaktisierend wirken, wodurch eine größere Antigendosis zum tödlichen Shock erforderlich ist. Für Narkotika wurde dies näher geprüft. Die Versuche zeigen, daß die Wirkung gegenüber schwach sensibilisierten Tieren bedeutend größer ist als gegenüber stark sensibilisierten, was man ja auch nach der erwähnten Kurve 3 erwarten mußte.

In Beziehung auf 3) wird die Bedeutung für sehr begrenzt angesehen, indem die meisten Zustände von herabgesetzter Empfindlichkeit vermutlich auf Veränderungen beruhen, die in Wirklichkeit zu 2) gehören. Nur für das bereits erwähnte Verhältnis, daß nämlich die Tiere sich mit zunehmendem Alter und Gewicht weniger empfindlich zeigen, hat 3) möglicherweise eine Bedeutung.

Nachdruck verboten.

[Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitales in Wien.]

Ueber Antigene mit verschiedenartigen Acylgruppen¹⁾.

X. Mitteilung über Antigene.

Ausgeführt mit Unterstützung der Fürstlich Liechtensteinschen Spende.

Von **Karl Landsteiner** und **Hans Lampl**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. November 1916.)

Der Untersuchung der Antigenspezifität steht die ungenügende Kenntnis der chemischen Konstitution der Antigene, im besonderen der Eiweißkörper, die wenigstens die überwiegende Mehrzahl der bekannten Antigene ausmachen, entgegen. Es ist aus diesem Grunde nicht möglich, anzugeben, welche chemischen Unterschiede den bekannten serologischen Differenzen zugrunde liegen. Offenbar wäre es nun ein wesentlicher Fortschritt, wenn es gelänge, durch Einführung verschiedener Gruppen bekannter chemischer Konstitution an die gleichen Stellen des Proteinmoleküls verschiedenartige Antigene zu erzeugen, so daß die Spezifität derselben von der Art der eingeführten Gruppen abhängt.

Durch frühere Untersuchungen wurden allerdings Eingriffe bekannt, die die serologischen Eigenschaften von Antigenen verändern. So reagiert schon erhitztes Serumeiweiß anders als unverändertes (Halban und Landsteiner). Durch chemische Reaktionen, z. B. Einwirkung von salpetriger Säure, Salpetersäure, Jod, erhielten Obermayer und Pick²⁾, durch Acetylierung, Veresterung, Methylierung von Eiweiß wir selbst³⁾ Antigene von besonderer Beschaffenheit. Hier handelte es sich aber um eine be-

1) Vgl. die vorläufige Mitteilung von Landsteiner und Prášek, Biochem. Zeitschr., Bd. 61, p. 191, und Centralbl. f. Physiologie, Bd. 30, No. 8.

2) S. Biochemie der Antigene, Jena (G. Fischer) 1912. Sep.-Abdr. aus Handb. d. pathog. Mikroorganismen.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, 21.

schränkte Zahl von Präparaten und zum Teil, z. B. bei der Anwendung von Oxydationsmitteln (Jod, Salpetersäure), um Reaktionen, die nicht so glatt sind, daß das serologische Verhalten mit voller Sicherheit auf den Eintritt oder die Veränderung bestimmter Gruppen zurückgeführt werden könnte. Außerdem sind, wie wir fanden, einzelne der entstehenden Körper, z. B. die mit Salpeter- oder salpetriger Säure dargestellten, oder mit salpetriger Säure behandelte und mit Phenolen kombinierte Eiweißkörper, in ihrem Verhalten als Antigene nicht oder kaum verschieden, obwohl man annehmen muß, daß die erfolgten Eiweißveränderungen nicht identisch sind.

Es ist demnach noch nicht gelungen, eine befriedigende Methode zur Lösung der gestellten Aufgabe zu finden. Wir versuchten nun durch Benützung unserer Ergebnisse über die Antigenwirkung von acyliertem Eiweiß einen Fortschritt in dieser Richtung zu erzielen. Wie wir fanden¹⁾, erhält man durch Einwirkung von Acetanhydrid auf Serumeiweiß ein acetyliertes Protein, das von dem ursprünglichen Eiweiß serologisch sehr verschieden ist. Es war zu untersuchen, ob auch durch Einführung anderer Säurereste, als desjenigen der Essigsäure, Antigene dargestellt werden können und ob diese Substanzen sich serologisch gleich oder verschieden verhalten. Als Verfahren zur Einführung von Säuregruppen benutzten wir zunächst wieder die Einwirkung von Säureanhydriden, und zwar verwendeten wir außer Acetanhydrid die Anhydride der Propion-, Butter-, Isobutter- und Valeriansäure.

Die Darstellung der Präparate geschah in folgender Weise. Pferdeserum wurde mit der doppelten Menge 1-proz. NaCl-Lösung verdünnt; die Lösung mit dem 2–3-fachen Volumen 95-proz. Alkohol gefällt, filtriert, mit absolutem Alkohol in der Reibschale verrieben und mit Alkohol und trockenem Aether gewaschen. Der noch ätherfeuchte Niederschlag aus 100 cm Serum wurde mit 50 ccm Benzol und 50 ccm Essigsäureanhydrid mit Rückflußkühler (Chlorcalciumrohr) 4 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt und weiter wie früher behandelt²⁾, dann auf das ursprüngliche Volumen des Serums (Zusatz von 0,5-proz. Phenol) gebracht. Um die Suspensionen möglichst fein zu erhalten, wurden sie in einem Zerkleiner-

1) Landsteiner und Jablons, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, p. 193.

2) L. c. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, p. 193.

rungsapparat 12—24 Stunden verrieben. Der Apparat besteht aus einem um eine schräg gestellte Achse rotierenden kugelförmigen, mit Glasstopfen verschließbaren Glasgefäß, in dem sich eine große Zahl kleiner Glaskugeln befindet¹⁾. In gleicher Weise wie mit Essigsäureanhydrid wurde die Behandlung mit den übrigen Säureanhydriden (Präparate von Kahlbaum) vorgenommen, nur wurden die Mengen der Anhydride den Molekulargewichten entsprechend erhöht²⁾. Die Produkte reagierten nicht oder nur sehr schwach mit Millons Reagens, nicht mit Ninhydrin.

Nach 3—5 intraperitonealen Injektionen von je 8 cm Serum entsprechenden Mengen der Präparate wurden im Komplementbindungsversuch wirksame Seren erhalten. Dabei zeigten sich Unterschiede in bezug auf das Immunisierungsvermögen der einzelnen Substanzen, insofern bei dem Acetylpräparat alle Tiere reagierten, während bei Butyryl- und Valeryleiweiß nur ein oder zwei von je 5 injizierten Kaninchen stark wirksame Antiseren lieferten. Die zwei übrigen Präparate standen in bezug auf die Antigenwirkung in der Mitte.

Die Prüfung der wirksamsten Seren auf Spezifizität hatte folgendes Resultat.

Ausführung des Komplementbindungsversuches in allen folgenden Versuchen wie in den früheren Mitteilungen. Bezeichnung: komplett (k.), fast komplett (f. k.), sehr stark (s. st.), stark (st.), mäßig (m.), schwach (schw.), Spur (Sp.), minimale Spur (m. Sp.), null (0). Das hämolytische System muß stark wirksam sein, insbesondere wurde immer frisches, rasch eintretende, glatte Hämolyse bewirkendes Komplement verwendet. Immunsere mit beträchtlicher antilytischer Wirkung waren nicht brauchbar. Um die Hämolyse in den durch das suspendierte Antigen getrübbten Proben besser beurteilen zu können, wurden manchmal Vergleichsproben mit gleicher Trübung und vollständig gelöstem Blut hergestellt.

Zum folgenden Versuch wurden die Antigene schätzungsweise auf gleichen Gehalt gebracht und in der Verdünnung 1 : 200 genommen (0,5 ccm) außer den acylierten Proteinen auch mit Alkohol gefälltes Pferdeserum (Alkoholeiweiß), von den Immunsere 1 Kapillartropfen (Versuch I), bei zwei aus einem anderen Versuch (II) hergenommenen Reihen $\frac{1}{2}$ Tropfen. Tropfengröße ungefähr 0,035 ccm. Ablesung bei I nach 2 Stunden 30 Minuten, bei II nach 20 Minuten im Wasserbad mit Glaswänden bei 37°.

1) Vereinigte Fabriken für Laboratoriumsbedarf, Berlin, Liste 154, S. 107.

2) Ueber den Einfluß der Menge des Acetanhydrids auf den Acetylgehalt der Produkte s. Landsteiner und Prášek, Biochem. Zeitschr., Bd. 74, p. 388.

Immunseren gegen	Acetyleiweiß	Propionyl-eiweiß	Butyryl-eiweiß	Isobutyryl-eiweiß	Isobutyryl-eiweiß	Valeryleiweiß	Valeryleiweiß	Alkohol-eiweiß	Kochsalz-lösung
Nummer der Immunseren	690	667	637	651	651	650	650	648	
Menge des Immunserums in Tropfen	1	1	1	1	1/2	1	1/2	1	
Antigene	Acetyleiweiß	0	m Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
	Propionyleiweiß	Sp.	0	st.	m.	s. st.	st.	s. st.	k.
	Butyryleiweiß	st.	0	0	Sp.	s. st.	0	schw.	k.
	Isobutyryleiweiß	f. k.	schw.	m.	m. Sp.	0	Sp.	schw.	k.
	Valeryleiweiß	k.	m.	schw.	Sp.	m.	0	0	k.
	Alkoholeiweiß	k.	f. k.	Sp.	k.	k.	st.	k.	0
Kochsalzlösung	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
Hämolysintitration für Versuch I (2 Std. 30 Min.)					Hämolysintitration für Versuch II (20 Min.)				
1:	600	1200	2400	4800	1:	1000	2000	4000	8000
	k.	k.	f. k.	st.		k.	k.	s. st.	schw.

Vergleich von Serum 508 (Acetanhydrid) und 651 (Isobuttersäureanhydrid), ferner 667 (Propionsäureanhydrid) und 650 (Valeriansäureanhydrid) unter Verwendung absteigender Antigen- und Serumquantitäten.

Ablesung nach 30 Minuten.

Antigene	Acetyleiweiß				Isobutyryleiweiß				Kochsalz-lösung
Antigenkonzentration 1:	100	200	400	800	100	200	400	800	
1 Tropfen Immunserum gegen	Acetyl-eiw. No. 508	0	0	0	Sp.	k.	k.	k.	k.
	Isobutyryl-eiw. No. 651	k.	k.	k.	k.	0	0	Sp.	s. st.
Kochsalzlösung		k.	.	.	.	k.	.	.	.
Immunseren gegen	Acetyleiweiß No. 508				Isobutyryleiweiß No. 651				
Menge der Immunseren in Kapillartropfen	2	1	1/2	1/4	1/8	2	1	1/2	1/4
Antigene 1:200	Acetyl-eiweiß	0	0	0	schw.	k.	m.	k.	k.
	Isobutyryl-eiweiß	f. k.	k.	k.	k.	k.	0	0	st.

Hämolysintitration (30 Min.).

1:	1:100	2000	4000	8000
	k.	k.	s. st.	schw.

Ablesung nach 40 Minuten.

Antigene	Propionyleiweiß				Valeryleiweiß				Kochsalz- lösung
Antigen- konzentration 1:	100	200	400	800	100	200	400	800	
1 Tropfen Immunserum gegen	Propionyl-eiw. No. 667				Valeryl-eiw. No. 650				
	0	0	0	m.	0	chw.	st.	k.	k.
	0	0	Sp.	s. st.	0	0	Sp.	s. st.	k.
Kochsalzlösung	k.	k.	.	.	k.	k.	.	.	.

Immunseren gegen	Propionyleiweiß No. 667					Valeryleiweiß No. 650				
Menge der Immunseren in Kapillartropfen	2	1	1/2	1/4	1/8	2	1	1/2	1/4	1/8
Antigene 1:200	Propionyl-eiweiß					Valeryl-eiweiß				
	0	0	0	Sp.	f. k.	0	0	f. k.	k.	k.
	m. Sp.	st.	f. k.	k.	k.	0	0	schw.	f. k.	k.

Hämolysintitration (40 Min.).

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	k.	s. st.	m.

Wie die Tabellen zeigen, bewirkten die Immunseren unter den gewählten Bedingungen in der Menge von einem Tropfen oder etwas weniger mit einer Antigenverdünnung von 1:200 komplette oder fast komplette Hemmung der Hämolysen bei 2- bis fast 4-facher lösender Lysinmenge. Bei einer Antigenverdünnung von 1:400 hemmten nur mehr einzelne der Seren und zwar solche gegen Acetyl- und Propionyleiweiß vollständig. Was den Verlust der ursprünglichen serologischen Beschaffenheit durch die Acylierung anbelangt¹⁾, so reagierte keine der Substanzen mehr mit dem auf das „Alkoholeiweiß“ eingestellten Antiserum, wohl aber war in einigen Fällen eine

1) Vgl. l. c. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, p. 193.

Reaktion der Acylseren auf das Ausgangsmaterial nachweisbar, bei dem Serum gegen Butyryleiweiß war diese Mitreaktion stark. Eine Spezifität der einzelnen Seren ist deutlich zu erkennen, wenn auch in verschiedenem Grade ausgebildet. Die größte Verschiedenheit zeigen die Seren gegen Acetyleiweiß einerseits und Isobutyryl- und Valeryleiweiß andererseits, die übrigen halten die Mitte. Im ganzen besteht eine annähernde Uebereinstimmung zwischen dem serologischen Verhalten und dem Grade der chemischen Verwandtschaft der eingeführten Acylgruppen ¹⁾).

In bezug auf diese Erscheinung ist sogleich der naheliegende Gedanke zu erörtern, daß die serologischen Unterschiede der einzelnen Antigene nicht durch die chemische Verschiedenheit der Acyle, sondern durch eine ungleich intensive (etwa mit zunehmendem Molekulargewicht abnehmende) Wirkung der einzelnen Säureanhydride bedingt sein können. Dafür schiene sogar ein Umstand zu sprechen, nämlich das schon erwähnte differente Verhalten der Seren gegenüber dem unveränderten Eiweiß. Dieses Argument wird aber dadurch entkräftet, daß die Seren gegen Acetyl- und Isobutyryleiweiß, von denen je drei geprüft wurden, mit dem ursprünglichen Eiweiß nicht reagieren, sonst aber sehr verschieden wirken, und in gleichem Sinn spricht der Vergleich der Seren gegen Butyryl- und Isobutyryleiweiß, die in ihrem Verhalten gegen Alkoholeiweiß sehr differieren, in der Reaktion auf die acylierten Substanzen einander aber nahestehen. Unmittelbarer wird die Frage, die später wieder wieder zu besprechen sein wird, durch den folgenden Versuch tangiert.

Hier wurden gleichartige Immunseren wie früher, als Antigene aber neue Substanzen genommen, die wir durch Einwirkung beträchtlich geringerer Mengen der Anhydride herstellten ²⁾. Im Fall des Acetanhydrides war vorher durch

1) Daß wirklich Acylgruppen eingetreten sind, ergibt sich aus der Analogie mit dem Acetyleiweiß, für welches der chemische Nachweis einer Substitution erbracht wurde (l. c. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, und Biochem. Zeitschr., Bd. 74, p. 388) und aus dem Verhalten gegen Millons Reagens.

2) Wurde gefälltes Eiweiß statt mit Anhydriden mit den entsprechenden konzentrierten Fettsäuren 3 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, so blieb

Acetylbestimmungen nachgewiesen worden ¹⁾, daß wirklich der Grad der Acylierung je nach der Methode variiert. So fanden wir bei einem Präparat, das mit der oben angegebenen Menge Acetanhydrid hergestellt war, 8,1 Proz., bei der Anwendung einer 5mal kleineren Menge Anhydrid 4 bis 5 Proz. CH_3CO .

Ein aus 100 ccm Pferdeserum hergestellter Alkoholniederschlag wurde mit trockenem Aether gewaschen und mit Aether auf 100 ccm aufgefüllt, dazu 10 ccm Essigsäureanhydrid bzw. äquivalente Mengen der übrigen Anhydride zugefügt und 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen, weiter wie die ersten Präparate behandelt.

Antigene 1:100, 1 Tropfen Immunserum, Ablesung nach 1 Stunde 30 Minuten.

Immunseren gegen		Acetyleiweiß	Propionyleiweiß	Butyryleiweiß	Isobutyryleiweiß	Valeryleiweiß	Kochsalz-lösung
Nummer der Immunseren		508	616	637	653	650	
Antigene	Acetyleiweiß	0	st.	st.	f. k.	f. k.	k.
	Propionyleiweiß	0	0	Sp.	schw.	Sp.	k.
	Butyryleiweiß	m.	Sp.	0	Sp.	0	k.
	Isobutyryleiweiß	st.	schw.	Sp.	0	Sp.	k.
	Valeryleiweiß	st.	st.	Sp.	schw.	0	k.
Kochsalzlösung		k.	k.	k.	k.	k.	k.

Hämolysintitration (1 Std. 30 Min.).

1:	800	1600	3200	6400
	k.	k.	f. k.	st.

Trotz Aenderung der Darstellungsmethode sind in diesem Versuche die Resultate zwar weniger prägnant als früher, vielleicht zum Teil wegen ungenügender Variation der quantitativen Verhältnisse bei der Reaktion, aber dem Wesen nach nicht anders. Insbesondere reagiert kein Serum etwa mit einem heterologen Antigen stärker als mit dem homologen. Die Annahme eines maßgebenden Einflusses des Grades

die Reaktion mit dem Serum gegen Alkoholeiweiß erhalten, und mit den „Anhydridseren“ trat nur in einem Falle — beim Essigsäureprodukt — eine ganz schwache Reaktion auf.

1) L. c. Biochem. Zeitschr., Bd. 74.

der Acylierung erscheint also durch diese Versuchsanordnung nicht gestützt.

Um weitere Aufschlüsse zu erhalten, schien es angezeigt, eine von der bisher angewendeten möglichst verschiedene Acylierungsmethode zu benutzen, und als solche bot sich die Behandlung des Eiweißes mit Säurechloriden in wässriger Aufschwemmung nach Schotten-Baumann dar ¹⁾. Dieses Verfahren bietet außerdem den Vorteil, wegen der leichteren Zugänglichkeit der Säurechloride allgemeiner anwendbar zu sein.

Zur Darstellung der Antigene wurde mit Alkohol gefälltes Eiweiß aus Pferdeserum mit wenig Wasser gewaschen, eine 100 ccm Serum entsprechende Menge in einer geräumigen Flasche mit Glasstopfen mit 30 bis 50 ccm Wasser und 100 g Natriumbikarbonat in 2 Portionen versetzt (zweiter Zusatz nach Verbrauch der halben Chloridmenge), 50 g des Chlorids in kleinen Portionen zugesetzt und rasch nach jedem Zusatz bis zum Verschwinden des stechenden Geruches in der Hand sehr kräftig geschüttelt. Wurde die Masse zu dick, so wurde so viel Wasser zugesetzt, daß das Schütteln ohne Schwierigkeit möglich war. Nur bei stärkerer Erwärmung der Flüssigkeit wurde kurze Zeit mit Wasser gekühlt. Trotz der sehr großen verwendeten Menge von Säurechlorid war es bei zwei sehr leicht durch Wasser zersetzbaren Säurechloriden notwendig, diese Menge und die des Natriumbikarbonats noch weiter zu steigern, bei Acetylchlorid auf das Doppelte, bei Trichloracetylchlorid auf das Anderthalbfache. (Zur Beurteilung der Intensität der Einwirkung diente die Reaktion mit einem mit nicht acyliertem Eiweiß hergestellten Immunsérum.) Die erhaltenen Produkte wurden abfiltriert, mit Wasser gewaschen, schwach sauer gemacht (Kongo), gründlich mit Wasser, Alkohol, meistens auch mit Aether gewaschen. Die Waschungen wurden teils auf dem Filter oder durch Verühren in einem Gefäß und längere Digestion vorgenommen. Wo reichliche Mengen von Säuren schwer zu entfernen waren, wurde mit Aether in einem Soxhletapparat vollständig extrahiert, wenn nötig, z. B. bei Anisoylchlorid, Palmitylchlorid noch mit kaltem Benzol behandelt. Zum Schluß wurden die Substanzen, ohne sie je trocken werden zu lassen, nochmals mit Alkohol und Wasser behandelt, mit 1-proz. NaCl-Lösung auf das ursprüngliche Serumvolumen aufgefüllt, neutral gemacht, $\frac{1}{2}$ Proz. Phenol zugesetzt und für so lange Zeit — bis zu 48 Stunden — in den Reibeapparat gebracht, bis eine feine Suspension hergestellt war, dann zur Verwendung im Kühlraum aufbewahrt. [Intensive Behandlung von Eiweiß mit reichlichem Säurechlorid in ätherischer Aufschwemmung ohne Zusatz eines säurebindenden Mittels scheint zu ähnlichen, aber, vielleicht wegen der Wirkung der freien Säure, weniger klaren serologischen Ergebnissen zu führen ²⁾.]

1) S. die vorläufige Mitteilung Biochem. Zeitschr., Bd. 61, 1914, p. 191.

2) Versuche mit E. Prášek.

Die gründliche Waschung ist meistens nötig, um antilytische Wirkungen der Antigene zu verhindern. Es kam aber einigemal vor, daß die Präparate trotzdem antilytische Wirkung hatten oder sie nach einiger Zeit der Aufbewahrung erwarben. Mehrmals konnten dann durch erneute Waschung mit den genannten Lösungsmitteln die Präparate brauchbar gemacht, oder es mußten neue Proben hergestellt werden.

Wir stellten solche Präparate mit Acetyl-, Chloracetyl-, Dichloracetyl-, Palmityl-, Trichloracetyl-, Valeryl-, Benzoyl-, Anisoyl-, Phenylacetyl-, Palmityl-, Zimtsäure- und Brenzschleimsäurechlorid dar. Die Säurechloride waren käufliche Präparate (Kahlbaum), das Brenzschleimsäurechlorid wurde mittels Thionylchlorids dargestellt¹⁾.

Die Behandlung der Kaninchen — gewöhnlich 5 Tiere — erfolgte durch intraperitoneale Injektionen von 8—10 ccm der Emulsionen in Abständen von gewöhnlich 7—10 Tagen. Von der 3. Injektion an wurden etwa eine Woche nach jeder Injektion Serumproben abgenommen und geprüft. Abnahme der Seren 7—10 Tage nach der letzten Injektion. Die Immunseren wurden mit dem Uhlenhuthschen Apparat durch Berkefeldfilter filtriert, in Portionen in Glasröhrchen mit langer Spitze, die eine mehrmalige sterile Entnahme zulassen, abgefüllt und im Eisschrank verwahrt.

In den Fällen, in denen wirksame Seren erhalten wurden, genügte eine drei bis fünfmalige Injektion. In einigen Fällen konnten aber auch nach zahlreicheren Injektionen keine Antikörper im Serum der Tiere nachgewiesen werden. Es waren dies die mit Benzoyl-, Palmityl- und Phenylacetylchlorid hergestellten Präparate. In einem Falle, beim Benzoylchlorid, wo wir eine ziemlich große Zahl von Tieren injizierten, steht dieses Resultat in Widerspruch mit einer früheren Beobachtung²⁾, da damals ein schwaches und ein gut wirksames, in zahlreichen Versuchen erprobtes Serum erhalten wurde. Was die Ursache der negativen Immunisierungsergebnisse bei den genannten Stoffen ist, können wir nicht angeben. Uebrigens waren auch sonst Unterschiede im Immunisierungsvermögen der verschiedenen Substanzen zu bemerken; besonders leicht wurden Immunkörper bei den mit Acetyl- und Dichloracetylchlorid dargestellten Präparaten erhalten. (Ueber das Präparat mit Brenzschleimsäurechlorid s. u.)

Wir verfügten im ganzen über sieben verschiedene Arten von brauchbaren Immunseren. Ueber die Spezifi-

1) Siehe H. Meyer, Analyse etc., Berlin (J. Springer) 1909, p. 538.

2) L. c. Landsteiner und Prášek. Die Benzoylierung wurde damals mit einem nicht mit Alkohol gefällten Serumeiweiß vorgenommen.

zität dieser Seren gibt der folgende Versuch eine Uebersicht.

Stammaufschwemmungen der Antigene, die in 1 ccm 0,035 g organische Substanz enthielten, wurden 100-fach verdünnt. Bestimmung des Gehaltes der Stammaufschwemmung durch Trocknen bei 100° im Platintiegel, Wägen, Veraschen bei nicht zu hoher Temperatur und Abziehen des Gewichtes des Glührückstandes. Von den Immunsereen wurden in Vorversuchen ermittelte Mengen genommen, die so groß waren, daß sie mit dem homologen Antigen noch vollständige Hemmung der Hämolyse gaben. So wurde von den Seren 762, 747, 770 ein, von 723, 730, 755 ein halber, von 733 ein viertel Kapillartropfen genommen. Immunsereen mit starker Eigenhemmung wurden nicht verwendet. Versuchsmethode im übrigen wie oben. Beobachtung im Wasserbad bei 37°. Ablesung nach 10 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde. Je 3 aufeinander folgende Zeilen entsprechen den sukzessiven Ablesungen.

Acetyleiweiß R ist ein nach dem angegebenen Verfahren aus Rinderserum hergestelltes Präparat.

Antigene	Acetyleiweiß	Acetyleiweiß R	Chloracetyl-eiweiß	Dichloracetyleiweiß	Trichloracetyleiweiß	Valeryl-eiweiß	Anisoyl-eiweiß	Cinnamoyl-eiweiß	Kochsalz-lösung
Immunsereen gegen	Acetyleiweiß No. 723	0	0	schw.	schw.	s. st.	s. st.	f. k.	f. k.
		0	Sp.	s. st.	s. st.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.
		m. Sp.	schw.	s. st.	s. st.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.
	Chloracetyl-eiweiß No. 730	0	schw.	0	0	0	st.	schw.	f. k.
		Sp.	s. st.	0	0	Sp.	f. k.	f. k.	f. k.
		Sp.	s. st.	0	0	Sp.	f. k.	f. k.	f. k.
	Dichloracetyl-eiweiß No. 755	m.	st.	0	0	0	schw.	k.	k.
		f. k.	k.	st.	0	Sp.	f. k.	k.	k.
		f. k.	k.	st.	0	Sp.	f. k.	k.	k.
	Trichloracetyl-eiweiß No. 762	0	Sp.	st.	0	0	schw.	m.	f. k.
		0	m.	s. st.	m. Sp.	0	s. st.	f. k.	k.
		0	s. st.	f. k.	Sp.	0	f. k.	f. k.	k.
	Valeryl-eiweiß No. 733	m.	f. k.	st.	Sp.	st.	0	s. st.	f. k.
		s. st.	f. k.	s. st.	m.	st.	0	s. st.	f. k.
		f. k.	k.	f. k.	st.	f. k.	0	k.	k.
	Anisoyl-eiweiß No. 747	k.	s. st.	f. k.	s. st.	s. st.	st.	0	f. k.
		k.	k.	k.	f. k.	f. k.	k.	0	k.
		k.	k.	f. k.	f. k.	k.	k.	0	k.
	Cinnamoyl-eiweiß No. 770	f. k.	f. k.	f. k.	st.	schw.	k.	s. st.	0
		k.	k.	k.	f. k.	s. st.	k.	f. k.	0
		k.	k.	k.	f. k.	st.	k.	k.	0
	Kochsalz-lösung	k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	f. k.	.
		k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	k.	.
		k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	k.	.

Hämolysintitration.

1 :			1000	2000	4000	8000
Ablesung	nach	10 Min.	k.	k.	s. st.	schw.
"	"	30 "	k.	k.	f. k.	st.
"	"	1 Std.	k.	k.	f. k.	s. st.

Die Betrachtung der Tabelle zeigt ähnlich wie bei den früheren Versuchen, daß die einzelnen Seren in der Regel mit den homologen Antigenen und denjenigen Präparaten, die ihnen nach der Art der eingeführten Acylgruppen nahe stehen, am stärksten reagieren. So wirkt z. B. das Serum gegen Chloracetyleiweiß außer auf dieses auch stark auf das Acetyl-, Dichloracetyl-, Trichloracetylpräparat. Außer diesen Mitreaktionen sind auch andere, aber weniger intensive zu bemerken. Deutliche Ausnahmen von der im allgemeinen vorhandenen Regelmäßigkeit betreffen, abgesehen von der Mitreaktion des Valerylserums auf das Dichloracetylpräparat hauptsächlich das Verhalten des Trichloracetyleiweißes — Reaktion mit Zimtsäureserum — und seines Antiserums, das mit einer Anzahl von Antigenen, besonders auch mit Acetyleiweiß stark reagiert. Die zu der eben genannten reziproke Kombination — Acetylserum auf Trichloracetyleiweiß — zeigt hingegen keine auffällige Mitreaktion.

Möglicherweise hängt das einigermaßen abweichende Verhalten des Trichloracetylpräparates und des zugehörigen Antiserums mit dem Umstande zusammen, daß das Trichloracetylchlorid bei dem angewendeten Verfahren in geringerem Maße einzuwirken scheint, als die übrigen Säurechloride. Als Anhaltspunkt, um die Intensität der Einwirkung zu beurteilen, wurde, wie schon erwähnt, die Reaktion mit einem Immunserum benutzt, das durch Injektion mit Alkohol gefällten Pferdeserums erhalten war. Mit diesem Serum reagierte das Trichloracetylpräparat stark unter Komplementbindung, die übrigen Präparate nicht oder sehr wenig. Bei der umgekehrten Versuchsanordnung — Acylseren auf durch Alkohol gefälltes Pferdeeiweiß — reagierten die Seren 730 und 755 stark, das „Trichloracetylserum“ aber am stärksten; die übrigen Seren gaben keine deutliche Reaktion. Man kann demnach annehmen, daß in diesem Falle keine genügend intensive Veränderung des Eiweißes erzielt wurde und daß eine verstärkte Einwirkung die abweichenden Eigenschaften des Antigens vielleicht beseitigen würde. Eine Stütze dieser Vermutung liegt in dem Verhalten des mit Brenzschleimsäurechlorid bereiteten Präparates. Auch das Antiserum dieser

Substanz gab komplette Hemmung mit dem nicht acylierten Alkohol-eiweiß (sehr geringe Hemmung beim reziproken Versuch) und reagierte in unspezifischer Weise mit der Mehrzahl der Antigene. Es ist daraus auch zu entnehmen, daß diese Antigene trotz ihrer ausgeprägten Unterschiede doch noch eine serologische Verwandtschaft haben.

Schon aus dem mitgeteilten Protokoll geht hervor, daß, abgesehen von den Paaren Dichloracetyl-, Trichloracetyl- und Chloracetyl-, Dichloracetyleiweiß (s. u.), mit Hilfe der Immunsere eine Diagnose der einzelnen Antigene wohl zu stellen wäre. Um die Verhältnisse der Spezifität genauer kennen zu lernen, war es nötig, die Mengen von Antigen und Antikörper zu variieren. Eine Anzahl solcher Versuche sind im folgenden wiedergegeben. Sie bestätigen die schon angeführten Resultate und zeigen, daß zum sicheren Nachweis der Spezifität häufig die Einhaltung gewisser Mengenverhältnisse nötig ist. Der vorletzte und letzte Versuch betreffen Paare mit geringer bzw. ohne nachweisbare Verschiedenheit.

Seren gegen Acetyleiweiß No. 723, Valeryleiweiß No. 733. Bei der Serumtitration wurden die Antigene in allen Versuchen in der Verdünnung 1:100 angewendet. Die Menge der Immunsere ist in Kapillartropfen angegeben. Ablesung nach 20 Minuten.

Antigene	Acetyleiweiß				Valeryleiweiß				Kochsalz-lösung
Antigenkonzentration 1:	100	200	400	800	100	200	400	800	
Serum No. 723 $\frac{1}{2}$ Tropfen	0	0	0	m.	k.	k.	k.	k.	k.
Serum No. 733 $\frac{1}{4}$ Tropfen	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	0	schw.	f. k.	k.	k.
Kochsalzlösung	k.	.	.	.	k.

Immunsere gegen	Acetyleiweiß					Valeryleiweiß				
Menge der Immunsere	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$
Antigene {	Acetyleiweiß	0	0	0	Sp.	k.	0	Sp.	f. k.	k. k.
	Valeryleiweiß	f. k.	k.	k.	k.	k.	0	0	0	m. s. st.

Hämolysintitration.

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	f. k.	st.	Sp.

Seren gegen Acetyleiweiß No. 723, Dichloracetyleiweiß No. 755. Ablesung nach 15 Minuten.

Antigene	Acetyleiweiß				Dichloracetyl-eiweiß				Kochsalz-lösung
Antigenkonzentration 1:	100	200	400	800	100	200	400	800	
Serum No. 723 $\frac{1}{2}$ Tropfen	0	0	0	st.	s. st.	f. k.	k.	k.	k.
Serum No. 755 $\frac{1}{2}$ Tropfen	s. st.	f. k.	k.	k.	0	Sp.	st.	f. k.	k.
Kochsalzlösung	k.	.	.	.	k.

Immunseren gegen	Acetyleiweiß					Dichloracetyleiweiß				
Menge der Immunseren	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$
Anti- { Acetyleiweiß gene { Dichloracetyleiweiß	0 m. Sp.	0 schw.	0 s. st.	Sp. k.	f. k. k.	0 0	Sp. 0	st. 0	k. 0	k. 0

Hämolysintitration.

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	k.	s. st.	schw.

Seren gegen Acetyleiweiß No. 723, Cinnamoyleiweiß No. 770. Ablesung nach 30 Minuten.

Antigene	Acetyleiweiß				Cinnamoyl-eiweiß				Kochsalz-lösung
Antigenkonzentration 1:	100	200	400	800	100	200	400	800	
Serum No. 723 $\frac{1}{2}$ Tropfen	0	0	m. Sp.	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.
Serum No. 770 1 Tropfen	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	0	Sp.	schw.	st.	k.
Kochsalzlösung	k.	.	.	.	k.

Immunseren gegen	Acetyleiweiß					Cinnamoyleiweiß				
Menge der Immunseren	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$
Anti- { Acetyleiweiß gene { Cinnamoyleiweiß	0 s. st.	0 f. k.	0 k.	Sp. k.	f. k. k.	m. 0	s. st. 0	k. m.	k. f. k.	k. f. k.

Hämolysintitration.

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	k.	s. st.	schw.

Seren gegen Anisoyleiweiß No. 747, Cinnamoyleiweiß No. 770. Ablesung nach 30 Minuten.

Antigene	Anisoyleiweiß				Cinnamoyleiweiß				Kochsalz- lösung
Antigenkonzentration 1:	100	200	400	800	100	200	400	800	
Serum No. 747 1 Tropfen	m Sp.	m.Sp.	schw.	st.	s. st.	f. k.	k.	k.	f. k.
Serum No. 770 1 Tropfen	f. k.	k.	k.	k.	m.Sp.	schw.	k.	k.	k.
Kochsalzlösung	k.	.	.	.	k.

Immunseren gegen	Anisoyleiweiß					Cinnamoyleiweiß				
Menge der Immunseren	2	1	1/2	1/4	1/8	2	1	1/2	1/4	1/8
Anti- / Acetyleiweiß	0	m Sp.	st.	k.	k.	s. st.	f. k.	k.	k.	k.
gene { Cinnamoyleiweiß	st.	f. k.	k.	k.	k.	0	schw.	f. k.	k.	k.

Hämolysintitration.

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	k.	f. k.	schw.

Seren gegen Chloracetyleiweiß No. 730, Valeryleiweiß No. 733. Ablesung nach 30 Minuten.

Antigene	Chloracetyleiweiß				Valeryleiweiß				Kochsalz- lösung
Antigenkonzentration 1:	100	200	400	800	100	200	400	800	
Serum No. 730 1/2 Tropfen	0	0	m.Sp.	m.	st.	st.	f. k.	f. k.	s. st.
Serum No. 733 1/4 Tropfen	st.	s. st.	f. k.	k.	0	m.Sp.	st.	f. k.	k.
Kochsalzlösung	k.	.	.	.	k.

Immunseren gegen	Chloracetyleiweiß					Valeryleiweiß				
Menge der Immunseren	2	1	1/2	1/4	1/8	2	1	1/2	1/4	1/8
Anti- / Chloracetyleiweiß	0	0	0	Sp.	st.	m.Sp.	schw.	st.	k.	k.
gene { Valeryleiweiß	0	Sp.	m.	f. k.	k.	0	0	0	Sp.	m.

Hämolysintitration.

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	f. k.	st.	Sp.

Seren gegen Dichloracetyleiweiß No. 755, Valeryleiweiß No. 733. Ablesung nach 20 Minuten.

Antigene	Dichloracetyleiweiß				Valeryleiweiß				Kochsalzlösung
Antigenkonzentration 1:	100	200	400	800	100	200	400	800	
Serum No. 755 $\frac{1}{2}$ Tropfen	0	0	st.	f. k.	s. st.	f. k.	f. k.	f. k.	k.
Serum No. 733 $\frac{1}{4}$ Tropfen	st.	s. st.	f. k.	k.	0	0	st.	f. k.	k.
Kochsalzlösung	k.	.	.	.	k.

Immunseren gegen	Dichloracetyleiweiß					Valeryleiweiß				
Menge der Immunseren	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$
Antigene {	Dichloracetyleiweiß	0	0	0	m. Sp.	st.	0	Sp.	m.	s. st.
gene {	Valeryleiweiß	m. Sp.	schw.	f. k.	k.	k.	0	0	0	m. Sp.
										f. k.
										st.

Hämolyseintitration.

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	. k.	s. st.	schw.

Seren gegen Acetyleiweiß No. 723, Chloracetyleiweiß No. 730. Ablesung nach 40 Minuten.

Antigene	Acetyleiweiß				Chloracetyleiweiß				Kochsalzlösung
Antigenkonzentration 1:	100	200	400	800	100	200	400	800	
Serum No. 723 $\frac{1}{2}$ Tropfen	0	0	Sp.	m.	st.	s. st.	s. st.	s. st.	f. k.
Serum No. 730 $\frac{1}{2}$ Tropfen	Sp.	Sp.	Sp.	st.	0	0	Sp.	m.	k.
Kochsalzlösung	k.	.	.	.	k.

Immunseren gegen	Acetyleiweiß					Chloracetyleiweiß				
Menge der Immunseren	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$
Antigene {	Acetyleiweiß	0	0	0	Sp.	st.	0	0	Sp.	s. st.
gene {	Chloracetyleiweiß	0	Sp.	m.	s. st.	k.	0	0	0	schw.
										k.
										st.

Hämolyseintitration.

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	k.	f. k.	st.

Seren gegen Chloracetyleiweiß No. 730, Dichloracetyleiweiß No. 755.
Ablesung nach 45 Minuten.

Antigene	Chloracetyleiweiß				Dichloracetyleiweiß				Kochsalz- lösung
Antigenkonzentration 1 :	100	200	400	800	100	200	400	800	
Serum No. 730 $\frac{1}{2}$ Tropfen	0	0	m. Sp.	m.	0	0	schw.	st.	f. k.
Serum No. 755 $\frac{1}{2}$ Tropfen	Sp.	Sp.	m.	s. st.	0	0	schw.	f. k.	k.
Kochsalzlösung	k.	.	.	.	f. k.

Immunseren gegen	Chloracetyleiweiß					Dichloracetyleiweiß				
Menge der Immunseren	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	2	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$
Anti- (Chloracetyleiweiß	0	0	0	Sp.	st.	0	0	Sp.	st.	f. k.
gene (Dichloracetyleiweiß	0	0	0	Sp.	m.	0	0	0	m. Sp.	schw.

Hämolysintitration.

1 :	1000	2000	4000	8000
	k.	k.	m.	Sp.

Es ist bei diesen Resultaten wieder wie oben die Frage zu erwägen, worauf die, wenn auch nur unvollständige, so doch zweifellos vorhandene Spezifität der Antikörper beruht. Außer der chemischen Besonderheit der eingeführten Gruppen könnte als Erklärung wieder ein verschieden hoher Grad der Acylierung in Betracht kommen, oder auch eine verschiedene Art der Einwirkung, so daß die Acylierung durch die einzelnen Säurechloride nicht an identischen Stellen des Proteinmoleküls erfolgt. Da offenbar mehrere Acylgruppen eintreten¹⁾, so wäre auch dadurch die Möglichkeit zahlreicher Variationen gegeben. Namentlich konnte daran gedacht werden, daß die Chloride der fetten und aromatischen Säuren verschiedene Reaktionsfähigkeit haben.

Wir versuchten in ähnlicher Weise wie oben dadurch eine Entscheidung zu erzielen, daß wir beide Arten von Acylseren vergleichsweise auf die nach verschiedenen Acylierungsmethoden hergestellten Antigene einwirken ließen.

Einwirkung mit Säureanhydridpräparaten hergestellter Seren auf nach der Schotten-Baumannschen Methode gewonnene Antigene aus Pferdeserum.

1) Vgl. l. c. Biochem. Zeitschr., Bd. 74.

Hierbei wurden mit den Chloriden der folgenden Säuren hergestellte Präparate verwendet: 1) Essigsäure, 2) Essigsäure (Rinderserum), 3) Monochloressigsäure, 4) Dichloressigsäure, 5) Trichloressigsäure, 6) Bromessigsäure, 7) Propionsäure, 8) Buttersäure, 9) Valeriansäure, 10) Palmitinsäure, 11) Phenyllessigsäure, 12) Oxalsäure, 13) Benzoësäure, 14) p-Chlorbenzoësäure, 15) p-Nitrobenzoësäure. Antigene wie oben auf einen Gehalt von 0,035 g organischen Trockenrückstand pro 1 ccm gebracht. $\frac{1}{2}$, Kapillartropfen der Immunseren. Ablesung nach 40 Minuten. Die Serumkontrollen gaben komplette Hämolyse.

Immunseren gegen	Antigene														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Acetyleiweiß No. 684	0	0	0	Sp.	m.	m.	0	st.	k.	f. k.	k.	k.	k.	f. k.	k.
Valeryleiweiß No. 650	f. k.	f. k.	s. st.	schw.	schw.	s. st.	f. k.	Sp.	0	k.	f. k.	s. st.	k.	f. k.	f. k.
Kochsalz- lösung	k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	f. k.	f. k.

Hämolysintitration (40 Minuten).

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	k.	f. k.	st.

Immunseren gegen nach der Schotten-Baumannschen Methode mit den Chloriden folgender Säuren hergestellte Präparate; 1) Essigsäure, 2) Chloressigsäure, 3) Dichloressigsäure, 4) Trichloressigsäure, 5) Valeriansäure, 6) Anissäure, 7) Zimtsäure. Serummengen wie in dem Versuch p. 267. Antigene mit den Anhydriden folgender Säuren nach dem zu Anfang angegebenen Verfahren dargestellt: 1) Essigsäure, 2) Propionsäure, 3) Buttersäure, 4) Isobuttersäure, 5) Valeriansäure. Antigenverdünnung 1:200. Ablesung nach 2 Stunden 30 Minuten. Bei den Antigenkontrollen komplette Hämolyse.

Immunseren	Antigene					Immun- kontrolle
	1	2	3	4	5	
1	0	Sp.	f. k.	k.	s. st.	k.
2	schw.	m. Sp.	m.	st.	s. st.	k.
3	f. k.	schw.	st.	Sp.	st.	k.
4	k.	m.	f. k.	st.	f. k.	k.
5	k.	schw.	Sp.	schw.	0	k.
6	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.
7	f. k.	f. k.	f. k.	k.	f. k.	f. k.

Hämolysintitration (2 Stunden 30 Minuten).

1:	1000	2000	4000	8000
	k.	k.	k.	f. k.

Wie vorausszusehen war, zeigen auch diese Versuche keine vollkommene Spezifität der Seren, sondern eine Anzahl von Mitreaktionen. Trotzdem sind auch hier bei den homologen Kombinationen (Acetyl- und Valeryleiweiß) die Hemmungen komplett, und, besonders im ersten der beiden Versuche ist zu bemerken, daß die dem homologen Antigen nächstverwandten starke Reaktionen geben. So folgen dort nach der Reaktionsstärke mit dem Acetyleiweißserum die Antigene in der folgenden Reihe aufeinander: Essigsäure, Chloressig-, Propion-, dann Dichlor-, Trichlor-, Bromessigsäure, Buttersäure. Das Valeryleiweißserum gibt nach der homologen die stärkste Reaktion mit dem Buttersäureantigen.

Aehnliche Resultate wurden auch bei der Einwirkung der Immunseren auf einige Präparate erhalten, die durch Acylierung bei Anwesenheit von Chinolin dargestellt waren.

10 ccm Pferdeserum wurden mit Alkohol gefällt, der Niederschlag mit Chloroform gewaschen und mit Chloroform auf ein Volumen von 20 ccm gebracht, nach Zusatz von 10 ccm Chinolin und 5 ccm Säurechlorid 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Waschen des Niederschlages mit Chloroform, Aether, Alkohol, Wasser, Neutralisation, Aufschwemmung in Kochsalzlösung, eventuell Behandlung im Reibeapparat. Bei diesem Verfahren traten öfters starke Verfärbungen ein, die zum Teil auch durch die verschiedenen Extraktionen nicht zu beseitigen waren.

Es scheint uns schwierig, die mitgeteilten Beobachtungen anders als durch einen Einfluß der chemischen Beschaffenheit der Acylgruppen auf die Spezifität zu erklären. Man müßte sonst die unserer Meinung nach sehr künstliche Annahme machen, daß bei den zwei verschiedenen Methoden der Acylierung, das eine Mal mit wasserfreien Anhydriden, das andere Mal mit Bikarbonat in wässriger Lösung, die Reste der einzelnen Säuren in der gleichen elektiven Weise an bestimmte Stellen des Proteinmoleküls herantreten oder einen bestimmten Grad der Acylierung hervorrufen. Dagegen sprechen aber schon die mehrmals angeführten Ergebnisse von Acetylbestimmungen bei verschiedener Art der Acylierung von Eiweiß.

Trotzdem ist es durchaus wahrscheinlich, daß neben der chemischen Natur der Säuregruppen auch die Art und der

Grad der Acylierung serologische Unterschiede verursachen können. Daß solche Differenzen den Einfluß der chemischen Natur der Acylgruppen in unseren Versuchen nicht verwischt haben, läßt daran denken, daß bei den gewählten Verfahren, vielleicht wegen der großen Ueberschüsse der Acylierungsmittel, der Eintritt von Säuregruppen bei den verschiedenen Säureresten in ziemlich ähnlicher Weise erfolgt oder möglicherweise die Acylierung bestimmter Gruppen des Eiweißes einen dominierenden Einfluß ausübt. Unser Ergebnis wird dadurch gestützt, daß wir bei einer anderen Gruppe von Antigenen gleichsinnige Resultate erhalten haben, über die wir in einer folgenden Mitteilung berichten werden.

Zusammenfassung.

Es wurde untersucht, ob durch Einführung verschiedener Säuregruppen in Eiweiß serologisch unterscheidbare Antigene entstehen. Solche acylierte Proteine wurden durch Behandlung von Serumeiweiß mit Säureanhydriden (Anhydride der Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Isobuttersäure, Valeriansäure) und nach der Methode von Schotten-Baumann mit Säurechloriden (Chloride der Essigsäure, Mono-, Di-, Trichloressigsäure, Valeriansäure, Anissäure, Zimtsäure) hergestellt. Die mit diesen Produkten erhaltenen Immunseren zeigten eine zwar beschränkte, aber doch deutliche serologische Spezifität, die mit großer Wahrscheinlichkeit durch die chemische Verschiedenheit der eingeführten Gruppen bedingt ist.

Nachdruck verboten.

[Aus der k. k. Kinderklinik in Wien (Vorstand: Professor
Dr. C. Frhr. v. Pirquet).]

Studien über die normale Diphtherieimmunität des Menschen.

III. Mitteilung¹⁾.

Ueber die normale Diphtherieimmunität der Erwachsenen.

Von **Franz v. Gröer** und **Karl Kassowitz**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. Dezember 1916.)

In den früheren Mitteilungen haben wir gezeigt, daß die von Fischl und v. Wunschheim entdeckte Eigenschaft des Neugeborenenersums, das Diphtherietoxin zu neutralisieren, auf Anwesenheit des echten Diphtherieantitoxins, welches von der Mutter diaplacentar bezogen wird, beruht, und ferner, daß die Wöchnerinnen — obgleich sie genau wie ihre Kinder in 84 Proz. das normale Diphtherieantitoxin in ihrem Blute besitzen — dennoch eine gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber intrakutaner Einverleibung kleiner Mengen Diphtherietoxins aufweisen, ein Verhalten, welches auch darin einen Ausdruck findet, daß in solchen Fällen auch die in vitro ausgeglichenen und überneutralisierten Gemische von Toxin und Antitoxin eine entzündliche Reaktion hervorrufen (*paradoxe* IDR).

Die weitere Verfolgung dieser Tatsachen mußte sich zunächst nach zwei Richtungen entwickeln. Erstens war festzustellen, ob und inwieweit den Wöchnerinnen sowohl in bezug auf die Häufigkeit des Vorkommens des Diphtherieantitoxins in ihrem Blute, wie auf ihr Verhalten gegenüber dem Diphtherietoxin, eine Sonderstellung im Vergleich zu normalen Erwachsenen beiderlei Geschlechtes gebührt; zweitens aber mußte das Schicksal der passiven Diphtherieimmunität des Neugeborenen im Kindesalter verfolgt werden.

1) Siehe diese Zeitschr., Bd. 23, 1914, Heft 1.

Während wir uns die Lösung dieser letzteren Aufgabe für die folgende Mitteilung vorbehalten, sollen uns in den vorliegenden Zeilen die erstgenannten Fragen beschäftigen.

Daß das Vorkommen von Diphtherieantitoxin im Blute von 84 Proz. aller Mütter in keine Verbindung mit der Schwangerschaft zu bringen ist, sondern eine allgemeine Eigenschaft des Erwachsenenalters darstellt, war bereits auf Grund statistischer Feststellungen des Entdeckers der normalen Diphtherieimmunität des Menschen (v. Wassermann) klar. Denn auch v. Wassermann hat schon vor Jahren bei 85 Proz. aller Erwachsenen das Vorhandensein diphtherieantitoxischer Funktionen im Serum nachgewiesen.

Interessanter dagegen war für uns die Frage nach dem Verhalten normaler Erwachsener gegenüber der intrakutanen Diphtherietoxinreaktion (IDR), da schon allein die bekannte aspezifische Ueberempfindlichkeit der Haut der Schwangeren und Wöchnerinnen für das besonders häufige Vorkommen der paradoxen IDR bei Müttern von Bedeutung sein konnte.

Wir haben nun diese Verhältnisse einerseits an erwachsenen, außerhalb der Schwangerschaft bzw. des Wochenbettes stehenden Frauen, andererseits an erwachsenen Männern, einer neuerlichen Prüfung unterworfen. Wir glaubten uns in diesen zwei Untersuchungsreihen auf eine geringere Zahl der Fälle beschränken zu können, da es zu erwarten war, daß durchgreifende Unterschiede bald zutage treten werden. Wir untersuchten 33 Frauen und 40 Männer, und zwar mit derselben Methodik, wie wir sie früher bei der Untersuchung der Wöchnerinnen geübt hatten (siehe II. Mitteilung):

Jede Versuchsperson erhielt 1) eine intrakutane Injektion von $\frac{1}{60}$ der D. l. m. des Diphtherietoxins in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 2) eine intrakutane Injektion von ebenfalls $\frac{1}{60}$ D. l. m. desselben Toxins + 0,02 AE. in selbem Volumen. Gleichzeitig wurde Blutentnahme gemacht und das Serum im Meerschweinchenversuch nach Römer ausgewertet. Durch diesen letzteren Umstand waren wir in der Lage, auch die älteren Angaben v. Wassermanns über die Häufigkeit des Vorkommens des Diphtherieantitoxins bei Erwachsenen mit unserer Methodik exakt nachzuprüfen und zu ergänzen. Die intrakutanen Reaktionen konnten nicht so lange wie bei Wöchnerinnen verfolgt werden, da unser

Material vorwiegend aus der Ambulanz stammte¹⁾, sie wurden nur 1—2mal (nach 24—48 Stunden) notiert.

Wir lassen unsere Protokolle folgen.

No.	Datum	Name usw.	Klinische Diagnose	Intrakutanreaktion		Antitoxin-einheiten in 1 ccm Serum
				I (Toxin)	II (Toxin + Antitoxin)	
	1914			Männer.		
1	5. II.	Pach., Josef, 28 J.	Apicitis	Infiltrat und Rötung	ø	ø
2		Fried., Josef, 19 J.	Bronchitis	ø	ø	0,3
3		Boch., Andreas, 33 J.	Bronchitis	ø	ø	0,2
4		Ghu., Rudolf, 40 J.	Lebercirrhose	ø	ø	0,4
5		Rindh., Alexander, 44 J.	Aortitis	Infiltrat und Rötung	Wie I	0,25
6		Klet., Mathias, 37 J.	Apicitis	Nach 24 Std. Rötung, nach 48 Std. unverändert	Wie I	0,3
7		Hetow., Johann, 25 J.	Apicitis	Infiltrat und Rötung	Wie I	0,25
8	8. II.	Dubraw., Ladislaus, 26 J.	Apicitis	Infiltrat und Rötung	Wie I	0,4
9		Jesch., Josef, 29 J.	Bronchitis	ø	ø	0,5
10		Koem., Michael, 23 J.	Apicitis	ø	ø	0,1
11	12. II.	Rew., Josef, 21 J.	Magenkatarrh	Nach 24 Std. schon starke Reaktion mit Infiltrat und Hof (30:30)	Wie I	0,4
12		Seid., Adam, 27 J.	Nervosität	Rötung	Wie I	0,25
13		Land., Elias, 40 J.	Apicitis	ø	ø	0,25
14		Czerm., Franz, 37 J.	Nervosität	Rötung und kleines Infiltrat	Wie I	ø
15		Dosedl., Johann, 48 J.	Bronchitis	ø	ø	0,5
16		Nawr., Franz, 30 J.	Rheumatismus	Sehr starke Reaktion mit Hof (40:40)	Wie I	0,1
17	19. II.	Jalow., Mathias, 35 J.	Apicitis	Infiltrat und Rötung	Wie I	ø
18		Salz., Peter, 26 J.	Bronchitis	Infiltrat und Rötung	Wie I	0,4
19		Trag., Ignaz, 26 J.	Apicitis	Sehr starke, derb infiltrierte Rötung (20:20)	Rötung ohne Infiltrat	ø

1) Wir sprechen Herrn Hofrat v. Noorden (damals Vorstand der k. k. I. med. Klinik in Wien) für die Ueberlassung des klinischen und ambulatorischen Materials seiner Klinik unseren wärmsten Dank aus. Für das freundliche Entgegenkommen während unserer Arbeit in der Ambulanz der Klinik v. Noordens sind wir auch Herrn Dr. P. Saxl zu Danke verpflichtet.

No.	Datum	Name usw.	Klinische Diagnose	Intrakutanreaktion		Antitoxin- einheiten in 1 ccm Serum
				I (Toxin)	II (Toxin + Antitoxin)	
20	1914 21. II.	Hirschr., Elias, 56 J.	Nervosität	Rötung	Wie I	0,25
21		Ot., Vinzenz, 60 J.	Arterio- sklerose	Kleines Infiltrat und Rötung (10:10)	Wie I	0,2
22		Wrb., Franz, 48 J.	Potus	ø	ø	0,4
23		Vög., Josef, 31 J.	Lumbago	Rötung (11:11)	Wie I	0,25
24		Weisb., Josef, 22 J.	Bronchitis	Rötung (11:12)	Wie I	0,01
25	25. II.	Marek., Karl, 39 J.	Bronchitis	Rötung und etwas In- filtrat (10:10)	Wie I	0,2
26		Cziz., Otto, 27 J.	Apicitis	ø	ø	0,4
27		Kieg., Salomon, 53 J.	Nervosität	ø	ø	0,1
28		Pley., Karl, 35 J.	Apicitis	Infiltrat und Rötung (15:15)	Wie I	0,05
29	1. III.	Mad., Karl, 42 J.	Rheumatis- mus	Starke Reaktion mit Infiltrat und Hof (30:30)	Nur Rötung ohne Infil- trat	0,005
30		Tutt., Josef., 23 J.	Apicitis	ø	ø	0,1
31		Rich., Josef, 30 J.	Bronchitis	ø	ø	0,01
32		Schr., Karl, 19 J.	Apicitis	Schmerzhaftes Infiltrat und Rötung	Wie I	ø
33	3. III.	Nüss., Abram, 31 J.	Apicitis	ø	ø	0,2
34		Mrst., Josef, 36 J.	nil	Infiltrat und Rötung (10:10)	Wie I	0,05
35		Schal., Albert, 25 J.	nil	Sehr starke Reaktion mit Infiltrat und Hof (20:20)	Wie I	0,1
36		Nenn., Adolf, 33 J.	Aortitis	Infiltrat und Rötung (15:15)	Wie I	0,3
37	6. III.	Hen., Rudolf, 19 J.	Apicitis	ø	ø	0,5
38		Rechn., Anton, 28 J.	Nervosität	ø	ø	0,1
39		Strohm., Ferdinand, 39 J.	Lumbago	Rötung, fast ohne In- filtrat (10:10)	ø	ø
40		Wag., Leopold, 30 J.	Apicitis	Infiltrat und Rötung (20:15)	ø	ø
Frauen.						
1	1913 16. VI.	Schw., Franziska, 37 J., IV-para, letzte Ge- burt vor 2 1/4 Jahren	Cholecystitis	Nekrose	ø	ø
2		Jam., Frieda, 25 J., letzte Geburt vor 2 Jahren	Tbc. peri- tonei	Nach 24 Std. Rötung (12:12), nach 48 Std. schon etwas abgebläht	Wie I	0,7

No.	Datum	Name usw.	Klinische Diagnose	Intrakutanreaktion		Antitoxin- einheiten in 1 ccm Serum
				I (Toxin)	II (Toxin + Antitoxin)	
3	1913 16. VI.	Uhl., Kath., 50 J., letzte Geburt vor 16 Jahren	Hämolyt. Ikterus	Nach 24 Std. Rötung und Infiltrat (15:15), nach 48 Std. noch deutlicher	Wie I	0,5
4		Mar., Anna, 49 J., nulli- para	Icterus catarrhalis	ø	ø	0,25
5		Schin., Fanny, 18 J., nullipara	Anämie	ø	ø	0,5
6		Sklen., Johanna, 37 J., 1 Geburt vor 12 Jahr.	Anaemia splenica	ø	ø	0,5
7	20. VI.	Hock, Antonia, 23 J., nullipara	Anämie	Nach 24 Std. Rötung und Infiltrat, nach 48 Std. unverändert	ø	ø
8		Vorrhen., Marie, 18 J., nullipara	Bronchitis	Nach 24 Std. Infiltrat und Rötung (12:12), nach 48 Std. noch deutlicher	Wie I	ø
9		Wab., Anna, 23 J., nullipara	Anämie	Nach 24 Std. Rötung und Infiltrat (10:10), n. 48 Std. ablassend	Wie I	0,25
10		Smič., Fanny, 46 J., I-para (vor 30 Jahren)	Nervosität	ø	ø	0,125
11	22. VI.	Braust., Marie, 38 J., letzte Geburt vor 6 Jahren	Pleuritis	Nach 24 Std. Infiltrat (10:10), nach 48 Std. Hof (40:40)	Wie I	0,7
12		Hert., Barbara, 65 J.	Arterio- sklerose	Leichte Rötung ohne Infiltrat	Wie I	0,8
13		Rathf., Therese, 37 J., vor 20 Monaten ent- bunden	Apicitis	Leichte Rötung ohne Infiltrat	Wie I	0,5
14	8. VII.	Ha., Emilie, 35 J.	Nervosität	ø	ø	0,4
15	10. VII.	Kollm., Marie, 67 J.	Carcinom	ø	ø	0,5
16		Schw., Lilian, 38 J., nullipara	Rheumatis- mus	Nach 24 Std. enorme Reaktion mit Hof (50:50)	Wie I	0,9
17		Han., Emilie, 35 J., nullipara	Bronchitis	ø	ø	0,3
18		Leck., Auguste, 49 J., letzte Geburt vor 10 Jahren	ø	ø	ø	0,5
19	13. VII.	Neb., Hermine, 27 J., nullipara	Anämie	Nach 24 Std. 15:15, Rötung und Infiltrat, nach 48 Std. Hof (50:50)	Nach 24 Std. wie I, nach 48 Std. un- verändert	ø

No.	Datum	Name usw.	Klinische Diagnose	Intrakutanreaktion		Antitoxin- einheiten in 1 ccm Serum
				I (Toxin)	II (Toxin + Antitoxin)	
20	1913 13. VII.	Wes., Dana, 40 J., nullipara	Hysterie	Nach 24 Std. 12 : 12, Rötung, wenig Infiltrat	Wie I	0
21		Buksp., Amalia, 36 J., letzte Geburt vor 2 Jahren	Apicitis	0	0	0,3
22	16. VII.	Dud., Marie, 67 J.	Chronische Bronchitis	Nach 24 Std. Rötung, nach 48 Std. unverändert	Wie I	0,7
23		Mogd., Luise, 34 J., nullipara	Magenkatarrh	Nach 24 Std. Infiltrat und Rötung, nach 48 Std. unverändert	Wie I	0,06
24		Rub., Ida, 19 J., nullipara	Chlorose	Nach 24 Std. Infiltrat und Rötung (15 : 15), nach 48 Std. unverändert	Wie I	0,4
25		Mr., Marie, 43 J., letzte Geburt vor 13 Jahren	Nervosität	0	0	0,2
26	20. VII.	Vog., Amalia, 34 J., letzte Geburt vor 12 Jahren	Magenkatarrh	Nach 24 Std. Infiltrat und Rötung (15 : 15)	Wie I	0,5
27		Herzf., Hermine, 58 J., nullipara	Bronchitis	Nach 24 Std. Infiltrat und Rötung	Wie I	0,1
28		Gürt., Anna, 21 J., nullipara	Anämie	0	0	0,05
29	25. VII.	Sch., Pepi, 25 J., letzte Geburt vor 1 Jahr	Apicitis	Nach 24 Std. Infiltrat und Rötung	Wie I	0,1
30		Kral., Frieda, 25 J., letzte Geburt vor 2 Jahren	Anämie	0	0	0,2
31		Krus., Franziska, 40 J., vor 7 Jahren letzte Geburt; menstruiert	Migräne	0	0	0,4
32		Holz., Agnes, 49 J., letzte Geburt vor 12 Jahren	Magenkatarrh	Infiltrat und Rötung	0	0
33		Rein., Karoline, 59 J., nullipara	Nervosität	Infiltrat und Rötung	Wie I	0,05

Die hauptsächlichsten Ergebnisse dieser zwei Reihen, welche das Verhalten erwachsener Männer und Frauen hin-

sichtlich ihrer antitoxischen Immunität einerseits und zur IDR andererseits illustrieren sollen, lassen sich in folgender Tabelle, in welcher ihnen die früher an Wöchnerinnen erhobenen Befunde zum Vergleich an die Seite gestellt sind, zusammenfassen:

	Männer (40 Fälle)	Normale Frauen (33 Fälle)	Wöchnerinnen (143 Fälle)
Ausfall der Serumauswertung:			
Antitoxin vorhanden bei	82,5 Proz.	81,1 Proz.	84,0 Proz.
Antitoxinmangel bei	17,5 „	18,2 „	16,0 „
Ausfall der IDR auf Diphtherietoxin:			
positiv bei	62,5 Proz.	60,6 Proz.	63,6 Proz.
negativ bei	37,5 „	39,4 „	36,4 „
Ausfall der IDR auf Toxin + Antitoxin:			
überhaupt positiv bei	60,0 Proz.	51,5 Proz.	55,9 Proz.
positiv bei Serumimmunen	47,5 „	42,4 „	47,5 „
positiv bei Antitoxinlosen	7,5 „	9,1 „	8,4 „
negativ bei Antitoxinlosen	7,5 „	9,1 „	7,7 „
Antitoxingehalt des Serums:			
Maximum	0,5 AE.	0,9 AE.	0,8 AE.
Minimum	0,005 „	0,05 „	0,004 „

Man sieht, daß Erwachsene unabhängig von ihrem Geschlecht sowohl in bezug auf die Häufigkeit ihrer Serumimmunität, wie auch gegenüber der IDR ungefähr das gleiche quantitative Verhalten aufweisen. Auch stimmt dieses Verhalten mit dem, welches bei den Wöchnerinnen festgestellt wurde, gut überein. Die geringen prozentuellen Abweichungen sind wohl zum Teil wenigstens durch die geringere Zahl der Fälle der vorliegenden zwei Reihen erklärbar. Immerhin ist es bemerkenswert, daß die bei Männern erhobenen Befunde besser mit den bei Wöchnerinnen, als mit den bei normalen Frauen gefundenen Daten übereinstimmen.

Qualitativ war die IDR bei Männern in allgemeinem etwas weniger intensiv, als bei Frauen und besonders bei Wöchnerinnen. Obgleich — wie wir bereits erwähnt haben — die Reaktionen nicht längere Zeit hindurch verfolgt werden

konnten, so ließ es sich doch erkennen, daß sie im großen und ganzen wiederum die in der vorhergehenden Mitteilung beschriebenen 4 Haupttypen aufweisen.

Zusammenfassung.

Die bei den Wöchnerinnen hinsichtlich des Diphtherieantitoxingehaltes ihres Serums, sowie ihres Verhaltens zur intrakutanen Einverleibung kleiner Diphtherietoxinmengen erhobenen Befunde lassen sich rückhaltlos auf alle Erwachsene, ohne Geschlechtsunterschied, übertragen: 82—84 Proz. aller Erwachsenen besitzen Diphtherieantitoxin im Blute, weisen aber in 51—60 Proz. eine abnorme Hautempfindlichkeit gegen Diphtherietoxinbouillon auf.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie (Leiter: Privatdozent Dr. Dold) der Deutschen Medizin- und Ingenieurschule für Chinesen in Schanghai.]

Immunisierungsversuche gegen das Bienengift.

Von **Hermann Dold.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Oktober 1916.)

Die Erfahrungen der Imker scheinen dafür zu sprechen, daß eine Gewöhnung an das Gift der Bienen, also eine Immunisierung, vorkommt. J. Langer¹⁾ hat durch eine Umfrage bei einer großen Anzahl von Bienenzüchtern ermittelt, daß von 153 anfänglich giftempfindlichen Bienenzüchtern im Verlauf einer mehrjährigen Imkerei 126 eine Herabsetzung ihrer reaktiven (nicht subjektiven) Empfindlichkeit erfuhren, 14 sogar giftfest wurden, so daß mehrere gleichzeitig oder rasch hintereinander applizierte Stiche, abgesehen von der an der Stichstelle aufgetretenen Petechie, keinerlei Wirkung bei

1) J. Langer, Bienenvater, Jahrg. 33, No. 10, p. 190; Der Aculeatenstich, Festschrift für F. J. Pick (1898), zit. nach E. St. Faust, Die tierischen Gifte, Braunschweig (Vieweg & Sohn) 1906, p. 198.

ihnen hervorriefen. Von 164 Imkern gaben 11 an, von vornherein gegen das Bienengift unempfindlich gewesen zu sein, während 27 noch nach mehrjähriger Imkerei gleich empfindlich für das Gift blieben wie bei Beginn der Bienenzucht.

Die Gewöhnung an das Bienengift scheint demnach nicht bei allen Personen einzutreten, und die sich entwickelnde Immunität ist offenbar keine absolute. Sie erleidet eine Verminderung, wenn das Individuum längere Zeit nicht gestochen wird. Die Angaben der Bienenzüchter lauten vielfach dahin, daß sie jedes Jahr im Frühjahr auf die ersten Stiche stark reagieren und dann allmählich im Lauf des Jahres weniger empfindlich werden.

Ueber die chemische Natur und die pharmakologischen Wirkungen des Bienengiftes liegen Arbeiten von Brand und Ratzeburg¹⁾, von Bert²⁾, von Carlet³⁾, sowie die besonders eingehenden Untersuchungen von Josef Langer⁴⁾ vor. Letzterer stellte fest, daß das frisch entleerte Gifttröpfchen der Honigbiene wasserklar ist, deutlich sauer reagiert, bitter schmeckt und einen charakteristischen aromatischen Geruch besitzt. Das Gewicht eines solchen Gifttröpfchens schwankt zwischen 0,2 und 0,3 mg, sein spezifisches Gewicht beträgt 1,1313; beim Eintrocknen bei Zimmertemperatur erhält man ungefähr 30 Proz. Trockenrückstand. Die saure Reaktion des Giftes ist wahrscheinlich durch Ameisensäure bedingt, doch kommt diese, ebensowenig wie der den aromatischen Geruch bedingende flüchtige Körper, für die Wirkungen des Giftes nicht in Betracht. Der wirksame Bestandteil des Sekretes der Giftdrüse löst sich nicht in 96-proz. Alkohol; seine charakteristischen Eigenschaften und seine Wasserlöslichkeit werden durch die Alkoholbehandlung nicht verändert. Zweistündiges Erhitzen auf 100° C verminderte nicht die Wirksamkeit der wässerigen Giftlösungen.

Langer gelang es auch, die wirksame Substanz des Giftsekretes in eiweißfreiem Zustande zu erhalten. Der Körper besaß die charakteristischen Wirkungen des ganzen

1) Mediz. Zoologie, Bd. 2, 1883, p. 199.

2) Gaz. médicale de Paris, 1865, p. 771.

3) Compt. rend., T. 98, 1884, p. 1550.

4) Arch. f. exp. Pathol., Bd. 38, 1897, p. 381.

Sekretes; schwach essigsaure Lösungen dieses Körpers gaben keine der üblichen Eiweißreaktionen, dagegen Fällungen mit einer Reihe von Alkaloidreagentien. Danach wäre man mit Langer berechtigt, die wirksame Substanz des Bienengiftes als eine organische Base zu betrachten.

Wir hätten also ein Gift vor uns, welches kein Eiweißkörper, kein Toxalbumin ist, und trotzdem, worauf die eingangs erwähnten Erfahrungen der Imker hindeuten, Immunitätsreaktionen auszulösen scheint. Der einwandfreie Nachweis, daß es möglich ist, gegen diesen eiweißfreien, bis zu einem gewissen Grade chemisch definierten Körper Antikörper zu erzeugen wäre, wie schon E. St. Faust¹⁾ in seinem Buche über die tierischen Gifte betont, nicht bloß von praktischer, sondern auch von wissenschaftlicher Bedeutung.

In der Absicht, diesen Nachweis zu führen, wurden die vorliegenden Versuche unternommen. Zu diesem Zwecke versuchte ich zunächst die wirksame Substanz des Giftsekretes in eiweißfreiem Zustande zu gewinnen. Nach dem Vorgang J. Langers verfuhr ich dabei folgendermaßen:

Die Bienen von zwei Völkern, schätzungsweise 12 000 Stück, wurden durch Aether abgetötet, hierauf wurden ihre Stacheln samt Giftblasen ausgezogen und in 96-proz. Alkohol gesammelt. Die Extraktion des Stachels samt Giftblase wird am besten so bewerkstelligt, daß man die Biene zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand nimmt, dann mit einer in der rechten Hand gehaltenen feinen Pinzette auf den unteren ventralen Teil des Bienenleibes einen sanften Druck ausübt, wodurch der Stachel herausgetrieben wird, so daß er leicht mit der Pinzette gefaßt und zusammen mit der Giftblase herausgezogen werden kann. Giftblasen und Stachel wurden sodann vom Alkohol abfiltriert, der Filtrerrückstand wurde bei 40° C getrocknet und zu einem Pulver verrieben. Das Pulver, mit destilliertem Wasser extrahiert und filtriert, ergab eine gelbbraunliche, klare Flüssigkeit, die durch Eintropfenlassen in 96-proz. Alkohol wieder ausgefällt wurde. Der Niederschlag wurde gesammelt, mit absolutem Alkohol und Aether gewaschen, worauf nach dem Verjagen des Aethers eine graugelbliche Substanz hinterblieb, die durch wiederholtes Lösen in schwach essigsaurem Wasser und nachfolgendes Fällen durch Zusatz einiger Tropfen konzentrierten Ammoniaks schließlich keine Eiweißreaktion mehr gab.

Leider war aber die Ausbeute eine so geringe und entsprach die Wirksamkeit der Substanz so wenig der Erwartung,

1) Die tierischen Gifte, Braunschweig (Vieweg & Sohn) 1906, p. 198.

daß es unmöglich war, mit dem zur Verfügung stehenden Material die geplanten Untersuchungen durchzuführen.

Ich verzichtete darauf, die langwierige Prozedur zwecks Gewinnung größerer Mengen von Reinsubstanz fortzusetzen, und entschloß mich, die Versuche zunächst einmal mit dem nativen Gifte vorzunehmen. Ich bediente mich dabei des folgenden Verfahrens:

Die frisch ausgezogenen Giftblasen wurden auf feinem Filterpapier, welches in kleine Quadrathen eingeteilt war, ausgedrückt, und zwar so, daß in jedes Quadrathen der Inhalt einer Giftblase entleert wurde. Das Filterpapier wird dabei zweckmäßig auf eine Glasplatte gelegt, um jeden Verlust des ausgepreßten und in dem Filterpapier sich aufsaugenden Giftsekretes zu vermeiden. Es entspricht dann der Inhalt jedes Quadrathens dem Inhalt eines Giftbläschens. Vorversuche zeigten, daß das an das Filterpapier angetrocknete Gift sich leicht mit Wasser wieder extrahieren läßt und monatelang seine Wirksamkeit beibehält, wenn man es dunkel aufbewahrt.

Auf diese Weise war es möglich, beliebige, leicht feststellbare Mengen des Giftes zu konservieren und jederzeit wirksame meßbare Giftlösungen herzustellen. Damit stand den Immunisierungsversuchen gegen das Bienengift nichts mehr im Wege.

Als Versuchstier wählte ich Kaninchen, und zwar schien mir das Kaninchen sehr geeignet zur Entscheidung der Frage, ob sich nach wiederholter Behandlung des Auges mit Bienengift ein Zustand der Immunität ausbildet. Denn beim Kaninchen reagieren die Schleimhäute der Nase und des Auges, wie Langer festgestellt hat, in charakteristischer Weise auf das Gift; er fand, daß 0,04 mg des nativen Giftes, auf die Conjunctiva gebracht, Hyperämie, Chemosis und eitrige bis krupöse Conjunctivitis erzeugt.

Der Versuchsplan war folgender: Bei 20 gesunden Kaninchen, von denen 2 im Verlauf des Versuches eingingen, wurden jeweils in das linke Auge in bestimmten Zeitintervallen (5–6 Tage) 2 Tropfen einer gleich starken Giftlösung eingeträufelt. Der Grad der Wirkung wurde jedesmal sofort, nach 1 Stunde, nach 6 Stunden, nach 24 Stunden und nach 48 Stunden notiert, und zwar wurde der Einfachheit halber folgende Stärkeskala benutzt:

- 1 = leichte conjunctivale Reizung;
- 2 = mäßig starke conjunctivale Reizung, vermehrter Lidschlag, Tränen;

- 3 = starke conjunctivale Reizung, starkes Tränen, Blepharospasmus, mäßig starke Chemosis;
- 4 = eitrige Conjunctivitis, starke Chemosis;
- 5 = eitrig-krupöse Conjunctivitis, extreme Chemosis.

Nach genügend langer (9-maliger) Vorbehandlung wurde nach einem Intervall von 45 Tagen die Prüfung auf etwa eingetretene Immunität vorgenommen, indem nunmehr beide Augen 2 Tropfen einer gleich starken Giftlösung eingeträufelt bekamen und die Wirkung notiert wurde. Als Kontrolle diente bei jedem Tier das bisher unbehandelte rechte Auge. Außerdem wurden noch 2 unvorbehandelte normale Tiere, also 4 weitere Augen als Kontrollen herangezogen.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in der Tabelle I zusammengestellt. Der größeren Uebersichtlichkeit wegen ist jeweils nur der Zustand der Augen 1 Stunde nach der Gifteinträufelung tabelliert. Wie man sieht, besteht kein Unterschied in der Reaktion der linken, d. h. der vorbehandelten Augen gegenüber den rechten, d. h. unvorbehandelten Augen und auch nicht gegenüber den 4 Augen der zwei frischen, nicht vorbehandelten Tiere.

Was die eingeträufelte Giftmenge betrifft, so bekamen alle Tiere sowohl bei der Vorbehandlung als auch bei der Prüfung auf etwaige Immunität je 2 Tropfen derselben Giftlösung, von der 2 Tropfen ungefähr so viel Gift enthielten wie der Inhalt einer Giftblase. Wir applizierten demnach jedesmal ungefähr den Inhalt einer Giftblase. Nach Langer betrug das Gewicht der frisch entleerten Gifttröpfchen 0,2 bis 0,3 mg, und 0,04 mg (also der 5.—7. Teil davon) bewirkte am Kaninchenauge Hyperämie, Chemosis und eitrige bis krupöse Entzündung. Die von uns beobachteten Giftwirkungen waren wesentlich geringer; hatten doch die eingeträufelten 2 Tropfen Giftlösung (= 1 Giftblaseninhalt) in der Regel nur eine mäßig starke, höchstens eitrige, nie krupöse Conjunctivitis und mäßig starke Chemosis zur Folge. Danach scheint es, daß die chinesische Biene giftärmer ist; sie soll auch, wie mir von verschiedener Seite versichert wurde, gutmütiger sein, so daß man beinahe an eine Anpassung an den chinesischen Volkscharakter glauben könnte.

Trotzdem sich gezeigt hatte, daß eine lokale Immunität am Kaninchen nicht eingetreten war, untersuchte ich, ob nicht

Tabelle I.

Ange	I. Gift-applikation		II. Gift-applikation		III. Gift-applikation		IV. Gift-applikation		V. Gift-applikation		VI. Gift-applikation		VII. Gift-applikation		VIII. Gift-applikation		IX. Gift-applikation		Gift-applikation	
	Wirkung nach 1 Std.	Intervall 5 Tage	Wirkung nach 1 Std.	Intervall 5 Tage	Wirkung nach 1 Std.	Intervall 6 Tage	Wirkung nach 1 Std.	Intervall 6 Tage	Wirkung nach 1 Std.	Intervall 6 Tage	Wirkung nach 1 Std.	Intervall 6 Tage	Wirkung nach 1 Std.	Intervall 6 Tage	Wirkung nach 1 Std.	Intervall 6 Tage	Wirkung nach 1 Std.	Intervall 45 Tage	Wirkung nach 1 Std.	
1	L. 2-3		R. 2-3		3		3		2-3		2-3		2		2-3		2-3		2-3	
2	L. 2		R. 2		2-3		3		2-3		2-3		2-3		2		2-3		2-3	
3	L. 1		R. 1		1		1-2		1-2		1		1		1		1		1	
4	L. 2-3		R. 2-3		2-3		2-3		2-3		3-3		2		2-3		2-3		2	
5	L. 3		R. 3		2-3		3		3-4		3		3		2-3		3		3	
6	L. 2-3		R. 2-3		3		3		3-4		3		3		2-3		2-3		2-3	
7	L. 3		R. 3		2-3		3-4		4		3		3		2-3		2-3		3	
8	L. 1		R. 1		1-2		1		2		2		1-2		1-2		1-2		1-2	
9	L. 3		R. 3		2-3		3		3		3		3		2-3		3		3	
10	L. 2-3		R. 2-3		2		2-3		2		2-3		3		2-3		2		2	
11	L. 2		R. 2		2		2-3		3-4		3		2-3		3		2		2-3	
12	L. 3		R. 3		2-3		3-4		4-5		3-4		3		3		3		2-3	
13	L. 2-3		R. 2-3		3		2-3		3	†									2-3	
14	L. 3		R. 3		2-3		3-4		3		3		3		2-3		3		2-3	
15	L. 2-3		R. 2-3		2-3		3		2-3		2		2-3		2		2-3		2-3	
16	L. 2		R. 2		3		2-3		3		3-4		2-3		3		3	†		
17	L. 4		R. 4		3		3-4		3-4		4-5		3-4		4		3-4		3-4	
18	L. 2-3		R. 2-3		2		2		2		3		2-3		3		2		2	
19	L. .		R.		2-3	
20	L. .		R.		2-3	
	L. .		R.		2-3	
	L. .		R.		2-3	
	L. .		R.		2-3	
	L. .		R.		3	

im Serum der vorbehandelten Tiere Antikörper gegen das Bienengift nachweisbar seien. Man durfte annehmen, daß nach den 9 Vorbehandlungen vom Auge aus so viel Giftmenge resorbiert war, als zur Anregung einer Antikörperbildung notwendig ist.

Den Kaninchen 1, 2, 3 und 4 wurde Blut entnommen; ihr Serum, 1:5 verdünnt, wurde zu gleichen Teilen mit einer Giftlösung (1 Tropfen = 1 Giftblaseninhalt) gemischt. Zur Kontrolle wurde in gleicher Weise 1:5 verdünntes Normal-Kaninchenserum mit derselben Giftlösung zusammengebracht. Alle Mischungen, die Immunserum I-Giftmischung, die Immunserum II-Giftmischung, die Immunserum III-Giftmischung, die Immunserum IV-Giftmischung und die Normalserum-Giftmischung, blieben 1/2 Stunde lang im Brutschrank stehen, worauf je in das linke Auge 2 Tropfen der Immunserum-Gemische und in das rechte Auge das Normalserum-Gemisch eingeträufelt wurde. Das Ergebnis ist in Tabelle II zusammengefaßt.

Tabelle II.

K. n. No.		Wirkung nach 1 Std.
21	L. Auge erhält 2 Tropfen der Immunserum I-Giftmischung	2-3
	R. " " 2 " " Normalserum-Giftmischung	2-3
22	L. Auge erhält 2 Tropfen der Immunserum II-Giftmischung	2
	R. " " 2 " " Normalserum-Giftmischung	2
23	L. Auge erhält 2 Tropfen der Immunserum III-Giftmischung	2-3
	R. " " 2 " " Normalserum-Giftmischung	2-3
24	L. Auge erhält 2 Tropfen der Immunserum IV-Giftmischung	3
	R. " " 2 " " Normalserum-Giftmischung	3

Ein antitoxischer Einfluß der von den vorbehandelten Tieren stammenden Seren ist nicht zu konstatieren.

Das gleiche negative Ergebnis hatten Versuche mit den unverdünnten „Immunseren“.

Bei der ersten Versuchsreihe (Tabelle I) fiel auf, daß zwei Tiere eine geringere Reaktion auf das eingeträufelte Bienengift aufwiesen als die übrigen Tiere. Beide waren schwarze Tiere, während alle übrigen Albinos waren. Dies legte die Vermutung eines unterschiedlichen Verhaltens zwischen pigmentierten und nicht pigmentierten Tieren nahe.

Tabelle III.

Kan. No.	Farbe	Giftmenge	Auge	Wirkung
25	weiß	2 Tropfen beiderseits	L. R.	2 2
26	„	dgl.	L. R.	2-3 2-3
27	„	dgl.	L. R.	2-3 2
28	„	dgl.	L. R.	3-4 3-4
29	„	dgl.	L. R.	3 3
30	„	dgl.	L. R.	2-3 3
31	„	dgl.	L. R.	2-3 2-3
32	schwarz	dgl.	L. R.	1-2 1-2
33	„	dgl.	L. R.	1-2 1-2
34	„	dgl.	L. R.	1 1
35	„	dgl.	L. R.	1-2 2
36	„	dgl.	L. R.	1-2 1-2
37	„	dgl.	L. R.	0-1 1
38	„	dgl.	L. R.	1-2 1-2

Es wurde darum eine weitere Versuchsreihe aufgestellt, bei der eine gleiche Anzahl schwarzer und weißer Kaninchen die gleiche Menge derselben Giftlösung appliziert bekamen. Das Ergebnis, welches in der Tabelle III zusammengestellt ist, gibt dieser Vermutung recht. Die weißen Kaninchen reagierten durchweg stärker als die schwarzen. Wie erklärt sich diese Beobachtung? Ich glaube, man kann sie unter die allgemeine Erfahrung einreihen, daß die zartere Haut und Schleimhaut Pigmentloser im allgemeinen eine größere vasomotorische Empfindlichkeit besitzt als die Haut

und Schleimhaut pigmentierter Individuen. Denn im Vordergrund der Bienengiftwirkung am Kaninchenaug steht die Gefäßreaktion. Nicht ausgeschlossen ist, daß auch die Resorptionsverhältnisse auf der Haut und Schleimhaut Pigmentloser günstigere sind als auf der von pigmentierten Individuen. Es wäre interessant, einmal bei Bienenzüchtern über diesen Punkt Erhebungen anzustellen und zu ermitteln, ob etwa pigmentarme Personen stärker auf das Bienengift reagieren als pigmentreiche.

Zusammenfassung.

Es gelang trotz 9-maliger Vorbehandlung nicht, am Kaninchenaug eine lokale Immunität gegen die Wirkung des Bienengiftes (Honigbiene) zu erzielen.

Auch im Blute so vorbehandelter Kaninchen konnten keine antitoxisch wirkenden Stoffe nachgewiesen werden.

Pigmentarme Kaninchen (Albinos) reagierten im allgemeinen stärker auf das Gift als pigmentreiche (schwarze) Kaninchen.

Das Bienengift hält sich, an Filterpapier angetrocknet und dunkel aufbewahrt, monatelang wirksam.

Nachdruck verboten.

[Aus der Prosektur des Wilhelminenspitals in Wien.]

Ueber die Antigeneigenschaften von Azoproteinen ¹⁾.

XI. Mitteilung über Antigene.

Ausgeführt mit Unterstützung der Fürstlich Liechtensteinschen Spende.

Von **Karl Landsteiner** und **Hans Lampl**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. November 1916.)

Die Farbenreaktion von Eiweißstoffen mit aromatischen Diazokörpern wurde, nachdem vorher nur technische Angaben ²⁾ über die Färbung tierischer Fasern durch Diazokörper vorlagen, zuerst von Pauly ³⁾ eingehend untersucht. Nach diesen Untersuchungen beruht die Bildung der gelben oder braunen, in alkalischer Lösung orange bis rot gefärbten Verbindungen der Proteine mit Diazokörpern auf ihrem Gehalt an Tyrosin und Histidin, da diese die einzigen der bisher bekannten Eiweißspaltungsprodukte sind, die sich mit Diazokörpern kuppeln lassen. Ein weiterer Grund für diese Annahme liegt in dem Ausbleiben der Diazoreaktion bei solchen Protaminen, die kein Tyrosin oder Histidin enthalten (Pauly ⁴⁾). Neuerdings hat Pauly ⁵⁾ Azoverbindungen von Tyrosin und Histidin selbst rein dargestellt und analysiert und gefunden, daß in diese beiden Aminosäuren bei der Kuppelung zwei Moleküle des Diazokörpers eintreten.

1) Wir bezeichnen mit diesem Namen mit Diazokörpern gekuppelte Proteine.

2) D. R. Pat. No. 82 446, Kl. 8, 22. Juli 1894; s. Heumann, Die Anilinfarben etc., 3. Teil, p. 1064. Braunschweig (Vieweg) 1900.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 42, 1904, p. 512; vgl. ebenda Bd. 44, p. 159; Bd. 94, p. 284, 426.

4) Eine einzelne abweichende Beobachtung findet sich bei Kossel und Edlbacher, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 94, p. 268.

5) L. c. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 94, p. 284.

Bei unseren zu beschreibenden Versuchen über die Antigen-eigenschaften von Azoproteinen haben wir zunächst Kaninchenserumeiweiß mit Diazobenzol gekuppelt. (Ueber die schon vorliegenden Versuche s. p. 297.)

Darstellung des Antigens: 2,5 Anilin + 30 ccm Alkohol + 5 g Schwefelsäure werden gemischt, auf 30° erkalten gelassen, mit 3,3 Amylnitrit versetzt. Die Temperatur wird kurze Zeit zwischen 30 und 35° gehalten. Der bald entstehende Kristallbrei von Diazobenzolsulfat wird abgesaugt, mit wenig Alkohol und Aether gewaschen¹⁾.

Zur Herstellung des Eiweißpräparates wurde die erhaltene Diazoverbindung in 25 ccm kaltem Wasser gelöst und 100 ccm Kaninchenserum mit 100 ccm normaler Sodalösung und 10 ccm der Diazobenzollösung versetzt, 5–10 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann durch Ansäuern mit verdünnter Salzsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit wenig Wasser gewaschen, in 1-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, durch vorsichtigen Zusatz verdünnter Natronlauge gelöst und neutrale Reaktion hergestellt. Die Lösung wurde mit Kochsalzlösung auf 100 ccm gebracht, wenn nötig, zur Entfernung ungelöster Partikel durch Gaze filtriert. Zusatz von 0,25-proz. Phenol. (Das verwendete Kaninchenserum war durch etwa 3 Wochen unter Toluol aufbewahrt worden.)

Von der so dargestellten Lösung erhielten 6 Kaninchen in Abständen von 7–10 Tagen 6 teils intravenöse, teils intraperitoneale Injektionen von 4–10 ccm. Die etwa eine Woche nach der letzten Injektion abgenommenen Seren der überlebenden 5 Tiere zeigten die folgenden Präzipitin-Reaktionen mit dem Azoprotein aus Kaninchenserum und einem auf gleiche Weise hergestellten Präparat aus Pferdeserum.

Verdünnung des Antigens 1:100; in diesem wie in allen folgenden Versuchen 0,2 ccm der Antigenlösungen. 3 Kapillartropfen Immuneserum. Ablesung nach 2 Stunden bei 37°, Nacht Eiskasten.

Bezeichnung der Reaktionsergebnisse: sehr stark (s. st.), stark (st.), mäßig (m.), schwach (schw.), Spur (Sp.), minimale Spur (m. Sp.), null (0).

Nummer der Immuneseren		26	27	620	621	626
Anti-gene	Azoprotein Kaninchen	st.	st.	0	schw.	Sp.
	„ Pferd	m.	schw.	0	Sp.	0

Der Versuch ergibt klar, daß sich gegen arteigenes, aus Serumeiweiß bereitetes Azoprotein ohne besondere Schwierig-

1) Knoevenagel, Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., Bd. 28, p. 2094.

keit Antikörper herstellen lassen, die nicht nur auf das zur Immunisierung verwendete, sondern auch auf artfremdes Azoprotein präzipitierend wirken¹⁾.

Wir immunisierten nun zum Vergleich Kaninchen mit Azoprotein aus Pferdeserum, das nach der gegebenen Vorschrift bereitet war. Die Antikörperbildung geht hier leichter vor sich. Nach 4 intravenösen Injektionen von 2—4 ccm, denen öfters einen Tag vorher eine intraperitoneale Injektion von 3 ccm voranging, enthielten die Seren aller 3 verwendeten Tiere zum Teil stark wirkende Präzipitine. Die folgenden Versuche geben Aufschluß über die Wirkungsweise dieser Art von Immunseren.

2 Kapillartropfen Immunserum, Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten.

Antigene aus den verschiedenen Serumarten durch Kuppelung mit Diazobenzol hergestellt (s. o.).

Antigene: Azoprotein	Pferd			Rind			Mensch			Huhn			Kaninchen		
Konzentration der Antigene 1:	100	500	2500	100	500	2500	100	500	2500	100	500	2500	100	500	2500
Immunseren gegen Azoprotein Pferd No. 709	st.	m.	Sp.	schw.	Sp.	m.Sp.	schw.	m.Sp.	0	schw.	Sp.	0	0	Sp.	0
Azoprotein Ka- ninchen No. 26	schw.	schw.	m.Sp.	schw.	Sp.	0	schw.	Sp.	0	schw.	Sp.	m.Sp.	st.	m.	Sp.
natives Pferde- serum No. 492	m.	m.	Sp.	Sp.	.	.	0

Die im folgenden Versuch benutzten Antigene wurden in etwas modifizierter Weise dargestellt. Es wurde eine gewogene Menge Diazobenzolsulfat zur Kuppelung genommen, und zwar für 10 ccm Serum eine Lösung von 0,125 Diazobenzolsulfat in 2,5 ccm gekühltem Wasser. Der Gehalt der Antigenlösungen an organischer Substanz wurde durch Trocknen und Glühen bestimmt und die Lösungen auf einen Gehalt von 0,055 g organischen Trockenrückstandes in 1 ccm gebracht.

3 Kapillartropfen Immunserum, Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur (Zeile 1 und 2), nach folgender Aufbewahrung über Nacht im Eiskasten (Zeile 3 und 4).

1) S. V. Mitteilung: Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, p. 618.

Antigene: Azoprotein		Pferd				Kaninchen			
Konzentration der Antigene 1:		20	100	500	2500	20	100	500	2500
Immunsereen gegen	Azoprotein Pferd No. 709	m.	m.	m.	Sp.	Sp.	Sp.	m.Sp.	0
	Azoprotein Kaninchen No. 26	Sp.	schw.	schw.	Sp.	m.	st.	m.	Sp.
	Azoprotein Pferd No. 709	m.	st.	m.	Sp.	schw.	schw.	Sp.	m.Sp.
	Azoprotein Kaninchen No. 26	m.	m.	schw.	Sp.	m.	st.	m.	Sp.

2 Kapillartropfen Immunsereum, in den 2 letzten Proben 4 Tropfen. Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten.

Antigene	Azoprotein Pferd		Natives Serum Pferd		Natives Serum Mensch		Coctoeiweiß ¹⁾ Pferd	
Konzentration der Antigene 1:	100	500	100	500	100	500	100	400
Immunserum gegen Azoprotein Pferd No. 709	st.	m.	m. Sp.	Sp.	0	0	Sp.	schw.

Das Serum No. 26 (3 Tropfen) gab mit nativem und gekochtem Kaninchenserum keine Präzipitation.

Auch diese Proben zeigen, daß durch die Kuppelung mit Diazobenzol das Serumeiweiß eine Herabsetzung der Art-spezifizität erfährt, die nicht nur in der Möglichkeit der Herstellung von Antikörpern gegen arteigenes Eiweiß zum Ausdruck kommt, sondern, was nach früheren Erfahrungen²⁾ damit nicht gleichbedeutend ist, in der Reaktion eines Immunserums mit Azoproteinen aus dem Eiweiß sehr entfernter Tierarten. Diese Erscheinung ist, wie wir fanden, wahrscheinlich von der Intensität der Behandlung des Eiweißes mit Diazokörpern abhängig. Die Reaktion der Kaninchenantiseren auf Pferdeazoprotein ist stärker als die umgekehrte (s. u.). Außerdem ergeben die Versuche, daß bei einer bestimmten Art der Herstellung Pferdeazoprotein noch mit einem gewöhnlichen gegen natives Pferdeeieweiß gerichteten Präzipitin reagiert und

1) S. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, p. 211.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, p. 618.

umgekehrt das Serum gegen Pferdeazoprotein mit nativem Pferdeserum.

Obermayer und Pick¹⁾ gaben davon abweichend an, daß bei der Immunisierung mit Eiweiß, das mit Diazobenzol gekuppelt wurde, Immunsereen erhalten werden, die bei voller Erhaltung der Artspezifizität eine Strukturspezifizität für das gekuppelte Eiweiß besitzen.

Wir untersuchten nun Azoproteine, bei denen andere Diazokörper als Diazobenzol zur Kuppelung genommen wurden.

Als solche Komponenten verwendeten wir zur Kuppelung mit Kanincheneiweiß diazotierte Sulfanilsäure und p-Aminobenzoësäure, zur Kuppelung mit Pferdeeweiß außerdem diazotiertes Atoxyl und m-Aminobenzoësäure.

Diazotierung von Sulfanilsäure²⁾: 10 g Sulfanilsäure werden in 60 ccm norm. NaOH gelöst, mit 40 ccm 10-proz. NaNO₂ versetzt und das Gemisch in 125 ccm kalte norm. H₂SO₄ eingetragen. Die sich bald abscheidenden Kristalle werden abgesaugt und mit wenig Wasser gewaschen.

Diazotierung von p- und m-Aminobenzoësäure³⁾: 10 g Aminobenzoësäure werden in 500 ccm absolutem Alkohol gelöst, mit 11 ccm 7,7 norm. HCl versetzt und bei gewöhnlicher Temperatur 12 g Amylnitrit zugefügt. Die sich ausscheidenden Benzoësäurediazoniumchloride wurden mit sehr wenig Alkohol gewaschen.

Diazotierung von Atoxyl⁴⁾: 1 g Atoxyl wird in 36 ccm Wasser gelöst, mit 6,4 ccm norm. HCl versetzt und unter Kühlung mit 32,2 ccm $\frac{1}{10}$ norm. NaNO₂ diazotiert.

Die Kuppelung des Eiweißes wurde ebenso wie früher ausgeführt. Zu 100 ccm Serum wurden äquimolekulare Mengen, nämlich 1,14 der Diazobenzolsulfonsäure und der Benzoësäurediazoniumchloride in 1-proz. wässriger Lösung bzw. eine diazotierte Lösung von 1,92 Atoxyl genommen.

Die in ähnlicher Weise, wie oben angegeben, durchgeführte Immunisierung mit den Präparaten aus Pferdeserum ging wieder leicht vor sich, bei den Kaninchenpräparaten schwieriger.

Von diesen erhielten die Tiere in 8-tägigen Intervallen zwei intraperitoneale Injektionen von 8—10 ccm, dann intra-

1) Pick, Biochemie der Antigene, Jena (G. Fischer) 1912, p. 24, 25. S.-Abdr. aus Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle-Wassermann.

2) Siehe E. Fischer, Liebigs Ann., Bd. 190, p. 77.

3) Euler, Liebigs Ann., Bd. 325, 1902, p. 292.

4) Ehrlich und Bertheim, Ber. d. Deutschen Chem. Gesellsch., Bd. 40, 1907, p. 3292.

venöse Injektionen von ungefähr 4 ccm (einen Tag vorher 2 ccm i.p.).

Von 5 überlebenden Tieren, die mit dem aus Kaninchen-
serum und Diazobenzolsulfonsäure hergestellten Präparat in-
jiziert worden waren, hatten 3 nach 4—7 Injektionen wirk-
same Seren, die übrigen nicht nach 6—8 Injektionen. Die
Injektionen mit dem aus Kaninchen- und p-Diazobenzoe-
säure hergestellten Präparate ergaben bei 6 Kaninchen nach
8 Injektionen ein wirksames Serum.

3 Kapillartropfen Immunsrum. Stammaufschwemmung der Anti-
gene auf einen Trockenrückstand von 0,05 g pro ccm gebracht.

1) Pferde- und Kaninchen- und Kaninchen- und Kaninchen-
serum mit Diazobenzolsulfonsäure gekuppelt und die entsprechenden Seren.

Ablesung nach 2 Stunden Zimmertemperatur.

Antigene		Pferd			Kaninchen		
Konzentration der Antigene 1:		100	250	1000	100	250	1000
Immuns- seren gegen	Azoprotein Pferd No. 803	s. st.	st.	m.	Sp.	schw.	schw.
	Azoprotein Pferd No. 804	s. st.	st.	m.	m. Sp.	Sp.	schw.
	Azoprotein Kanin- chen No. 780	st.	st.	m.	s. st.	s. st.	st.
	Azoprotein Kanin- chen No. 785	st.	st.	m.	s. st.	s. st.	st.

2) Pferde- und Kaninchen- und Kaninchen- und Kaninchen-
serum mit p-Diazobenzoesäure gekuppelt und die entsprechenden Seren.

Ablesung nach 1 Stunde 30 Minuten Zimmertemperatur.

Antigene		Pferd			Kaninchen		
Konzentration der Antigene 1:		100	250	1000	100	250	1000
Imm- seren gegen	Azoprotein Pferd No. 796	s. st.	st.	schw.	0	0	0
	Azoprotein Kanin- chen No. 788	m.	schw.	Sp.	Sp.	schw.	schw.

Das Ergebnis stimmt bezüglich der Reaktion auf art-
fremdes Eiweiß bei 3 der Seren vollkommen mit den früheren
Resultaten überein, nur ein Serum (No. 796) zeigte bei der

hier verwendeten Serummenge keine Reaktion mit dem Kaninchenpräparat; nach unseren Erfahrungen wäre wohl durch Verwendung des Serums anderer Immuntiere, eventuell durch intensivere Behandlung des Immunisierungsantigens das typische Verhalten zu erzielen.

Wie der folgende Versuch zeigt, reagierten die aus Pferdeserum hergestellten Azoproteine noch mit einem gewöhnlichen Pferdepräzipitin und umgekehrt ein Teil der Azoproteinseren mit nativem Pferdeeiweiß (s. o.); eine analoge Reaktion wie diese wurde früher auch bei Xanthoproteinserum festgestellt ¹⁾.

2 Kapillartropfen Immunserum gegen natives Pferdeserum No. 492. Antigene aus Pferdeserum. Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur.

Bezeichnung der Antigene und Immunseren hier und in den folgenden Versuchen durch die zur Diazotierung und Kupplung verwendete Substanz. Antigenkonzentration 1:100 und 1:1000.

Antigene	Natives Pferdeserum	Sulfanil- säure	p-Amido- benzoësäure	m-Amido- benzoësäure	Atoxyl
1:100	st.	schw.	schw.	Sp.	Sp.
1:1000	schw.	Sp.	Sp.	Sp.	m. Sp.

Azoproteinseren: Sulfanilsäure No. 408, p-Aminobenzoësäure No. 796, Atoxyl No. 807. 3 Kapillartropfen Immunserum. Antigen natives Pferdeserum 1:100 und 1:1000.

Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur, nachts Eiskasten.

Nummer der Immunseren	804	796	807
Antigen 1:100	m.	schw.	0
1:1000	schw.	m.	m. Sp.

Analoge Proben, mit nativem Rinderserum angestellt, gaben keine Reaktion.

Im weiteren wurde der Einfluß einer verschieden intensiven Einwirkung der Diazokörper auf die Reaktion der Azoproteine mit gewöhnlichem Pferdepräzipitin geprüft.

Verhalten in verschiedener Weise aus Pferdeserum hergestellter Azoproteine gegen gewöhnliches Pferdepräzipitin (No. 492). Kuppelung durch 15 Minuten bei Eiskühlung.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, p. 216.

Es wurden bei den Antigenen 1 für 5 cm Serum 0,029 Diazobenzolsulfonsäure bzw. 0,029 p-Benzoësäurediazoniumchlorid und eine diazotierte Lösung aus 0,049 Atoxyl (äquimolekulare Mengen) genommen. Zur Herstellung der Antigene 2, 3, 4 wurde die 2-, 3-, 4-fache Menge der Diazokörper verwendet.

Antigenlösungen 1:100 und 1:1000. Immunsrum gegen natives Pferdeserum No. 810, 2 Kapillartropfen.

Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten.
(Reaktion des Immunsrums mit nativem Pferdeserum 1:100 st., 1:1000 schw.)

Konzentration der Antigene	1:100				1:1000			
Antigene	1	2	3	4	1	2	3	4
Sulfanilsäure	st.	m.	m. Sp.	0	schw.	Sp.	m. Sp.	0
p-Amidobenzoë- säure	st.	schw.	m. Sp.	0	schw.	Sp.	0	0
Atoxyl	st.	m.	Sp.	Sp.	schw.	Sp.	Sp.	Sp.

Man entnimmt diesem Versuche, daß die serologische Veränderung des Eiweißes von der Intensität der Behandlung mit den Diazokörpern abhängig ist.

Aus dem Erhaltensein von Resten der Reaktionsfähigkeit mit einem Präzipitin gegen gewöhnliches Pferdeserum wird es verständlich, daß die Antigene auch mit Immunsren reagieren können, die gegen verschiedene andere aus Pferdeserum hergestellte Eiweißpräparate gerichtet sind. Wir haben ähnliche Verhältnisse schon früher angetroffen¹⁾. Die Reaktionen dieser Art gehen, wie es scheint, öfters mit einer Abschwächung der Artspezifität einher.

Antigene A aus Pferdeserum, wie sie zur Immunisierung verwendet wurden, und gleichartige Präparate aus Rinderserum, ferner Antigene B, die durch 15 Minuten mit einer 3mal so großen Menge von Diazokörper als die Präparate A unter Kühlung behandelt wurden.

Antigene in der Verdünnung 1:100; 2 Tropfen Immunsrum gegen sogenanntes Diazoeiweiß²⁾ (Rind) No. 53 und gegen mit Salzsäure gefälltes Pferdeeweiß No. 78²⁾.

Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten, bei den Antigenen aus Rinderserum nach 1 Stunde Zimmertemperatur.

1) L. c. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, p. 216—219, 232 ff.

2) Vgl. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, p. 214.

	Sulfanil- säure	p-Amido- benzoë- säure	m-Amido- benzoë- säure	Atoxyl	Natives Pferde- serum
Immunsereen gegen	Antigene A				
	Diazoeiweiß No. 53	m.	st.	Sp.	0
	HCl-Eiweiß No. 78	schw.	schw.	0	Sp.
	Antigene B				
	Diazoeiweiß No. 53	m. Sp.	m. Sp.	m. Sp.	Sp.
	Antigene Rind				
	Diazoeiweiß No. 53	m.	m.	m.	m. Sp.
	HCl-Eiweiß No. 78	0	0	0	0

Diazoeiweiß Pferd und Rind 1:100; 2 Kapillartropfen der Immunsereen: Sulfanilsäure No. 804, p-Amidobenzoësäure No. 796, Atoxyl No. 807, natives Pferdeserum No. 492, Diazoeiweiß No. 53.

Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur.

Nummer der Immunsereen	804	796	807	492	53
Antigene { Diazoeiweiß Pferd	0	schw.	0	0	st.
{ Diazoeiweiß Rind	0	m. Sp.	0	.	s. st.

Auch diese Tabelle zeigt ein Zurücktreten der Mitreaktionen, also eine Zunahme der Strukturspezifität bei intensiverer Veränderung des Eiweißes. Die mit verschiedenen Diazokörpern hergestellten Azoproteine verhalten sich in bezug auf die Mitreaktionen nicht gleich.

Nach dem bisher Angeführten haben die Azoproteine ein ähnliches Verhalten wie z. B. das Xanthoprotein¹⁾, nur mit graduellen Unterschieden. Auch diese variieren aber, wie wir fanden, mit der Art der Herstellung der Antigene und der Beschaffenheit der Azokomponenten. So entsprechen die Ergebnisse der von uns schon geäußerten Meinung, daß zwischen Eiweißveränderungen, die die Artspezifität nicht merklich beeinflussen, und solchen, die sie völlig aufheben, Uebergänge bestehen.

1) Vgl. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, p. 211.

In dem Falle der Azoproteine blieb noch zu untersuchen, ob die Art der eingeführten Gruppen serologisch erkennbar ist¹⁾. In dieser Richtung waren positive Resultate besonders bei ziemlich intensiver Behandlung des Eiweißes mit Diazokörpern oder bei der Prüfung mit artheterologen Antigenen zu erwarten.

2 Kapillartropfen der Immunsereen gegen Azoproteine (Pferd). Sulfanilsäure No. 804, p-Aminobenzoësäure No. 796, Atoxyl No. 807.

Antigene aus Pferdeserum, wie sie zur Immunisierung benutzt wurden, mit einem Gehalt der Stammaufschwemmung von 0,05 g organischer Substanz in 1 ccm.

Ableseung nach 1 Stunde Zimmertemperatur.

Antigene		Sulfanilsäure						p-Aminobenzoësäure					
Konzentration der Antigene 1:		100	200	500	1000	5000	20 000	100	200	500	1000	5000	20 000
Immunsereen	Sulfanilsäure	st.	m.	schw.	schw.	0	0	m.	m.	schw.	Sp.	0	0
	p-Aminobenzoësäure	m.	m.	schw.	Sp.	0	0	s. st.	st.	m.	schw.	Sp.	0
	Atoxyl	schw.	schw.	Sp.	Sp.	m. Sp.	0	schw.	schw.	Sp.	Sp.	m. Sp.	0

Antigene		m-Aminobenzoësäure						Atoxyl					
Konzentration der Antigene 1:		100	200	500	1000	5000	20 000	100	200	500	1000	5000	20 000
Immunsereen	Sulfanilsäure	Sp.	Sp.	Sp.	m. Sp.	0	0	schw.	schw.	Sp.	Sp.	0	0
	p-Aminobenzoësäure	schw.	m.	m.	schw.	0	0	schw.	m.	m.	Sp.	0	0
	Atoxyl	0	0	0	0	0	0	st.	s. st.	st.	m.	Sp.	0

Der Versuch ergibt gewisse Unterschiede in der Wirkung der einzelnen Seren auf die verschiedenen Azoproteine aus Pferdeserum, doch ist die Spezifität, etwa abgesehen von dem Serum gegen das Atoxylpräparat, nicht deutlich. Das Resultat ist nach dem, was oben über die Reaktion der Azoproteinseren mit Pferdeeweiß angeführt wurde, leicht begreiflich.

1) S. Biochem. Zeitschr., Bd. 61, p. 191; Centralbl. f. Physiol., Bd. 30, 1915, No. 8, und die vorhergehende (X.) Mitteilung.

Die Ergebnisse eines analogen Versuches mit den Seren gegen Kaninchenazoproteine sind ähnliche, so daß wir von einer ausführlichen Wiedergabe absehen. In den folgenden Versuchen mit stärker verändertem Pferdeeiweiß und besonders mit Azoproteinen aus Rinderserum sind die Differenzen aber besser ausgeprägt.

Zur Herstellung der Prüfungsantigene aus Pferdeserum wird eine 3mal so große Menge von Diazokörpern genommen als bei der Bereitung der Immunisierungspräparate. Dauer der Kuppelung 15 Minuten (unter Kühlung mit Eis).

Immunseren gegen: Sulfanilsäure No. 804, 3 Tropfen, p-Aminobenzoë-säure No. 796, 6 Tropfen, Atoxyl No. 807, 2 Tropfen.

Ablesung nach 2 Stunden 30 Minuten Zimmertemperatur, Nacht Eiskasten.

Antigene		Sulfanilsäure			p-Aminobenzoë-säure			m-Aminobenzoë-säure			Atoxyl		
Konzentration der Antigene 1:		100	500	2000	100	500	2000	100	500	2000	100	500	2000
Immunseren	Sulfanilsäure	schw.	m.	m.	0	0	0	0	0	0	Sp.	Sp.	m. Sp.
	p-Aminobenzoë-säure	0	0	0	Sp.	schw.	Sp.	schw.	schw.	Sp.	schw.	schw.	Sp.
	Atoxyl	0	0	m. Sp.	0	0	0	0	0	0	m. Sp.	st.	st.

Antigene aus Rinderserum, ebenso dargestellt wie die Immunisierungspräparate aus Pferdeserum; 1 ccm der Stammlösungen enthält 0,05 g organischen Trockenrückstand.

Immunseren: Sulfanilsäure No. 804, 5 Tropfen, p-Aminobenzoë-säure No. 796, 6 Tropfen, Atoxyl No. 807, 3 Tropfen.

Ablesung nach 1 Stunde Zimmertemperatur.

Antigene		Sulfanilsäure			p-Aminobenzoë-säure			m-Aminobenzoë-säure			Atoxyl		
Konzentration der Antigene 1:		100	250	1000	100	250	1000	100	250	1000	100	250	1000
Immunseren	Sulfanilsäure	schw.	schw.	Sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	p-Aminobenzoë-säure	0	0	0	Sp.	schw.	Sp.	m. Sp.	m. Sp.	0	0	0	0
	Atoxyl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	m.	st.	schw

Bei einer Ablesung zu späterer Zeit — 2 Stunden Zimmertemperatur, Nacht Eiakasten — traten noch eine Anzahl schwacher Reaktionen in den vorher klaren Proben auf, doch blieben die Unterschiede bei den Seren 804 und 807 sehr deutlich.

Die in diesen Versuchen zu beobachtende Spezifität gab den Anlaß zu einer ausführlichen Untersuchung, die den Gegenstand einer folgenden Mitteilung bilden wird. Hierbei erwies sich die Prüfung der gegen Pferdeazoprotein gerichteten Immunseren mit Präparaten aus dem Serum einer weit entfernten Tierart (Huhn) als zweckmäßig.

Zusammenfassung.

Es wurden die Antigeneigenschaften mit Diazokörpern gekuppelten Eiweißes untersucht.

Nach Injektion solcher Azoproteine aus Pferdeeiweiß entstehen Immunseren, die auch auf Azoproteine aus dem Eiweiß entfernter Tierarten präzipitierend wirken. Aus Kaninchen-serum dargestellte Azoproteine wirken bei Kaninchen als Antigene, und ihre Injektion erzeugt bei diesen Tieren präzipitierende Immunseren.

Es wurden Anhaltspunkte dafür gefunden, daß mit verschiedenen Diazokörpern hergestellte Azoproteine serologisch zu unterscheiden sind.

Nachdruck verboten.

[Aus der bakteriologischen Abteilung der Medizinischen Staatsanstalt in Stockholm.]

Ueber den Verlauf der durch Serum und durch Leukocytenextrakt hervorgerufenen Bakteriolyse.

Von Professor Dr. Alfred Pettersson.

Mit 2 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. Dezember 1916.)

Bei meinen früheren Untersuchungen über die bakterizide Wirkung von Blutserum und von Gefrierextrakt von normalen Leukocyten nahm ich ziemlich regelmäßig den Unterschied zwischen ihnen wahr, daß die Abnahme der eingesäten Bakterien im Serum viel rascher erfolgte als in den Leukocytenextrakten. In den letzteren setzte die Bakterienvernichtung öfters nicht unmittelbar nach der Einsaat ein, sondern begann erst nach einer kürzeren oder längeren Latenzzeit, während der die Bakterienmenge im großen und ganzen unverändert blieb oder bisweilen sogar sich vermehrte. Dafür dauerte die Bakterizidie in den Leukocytenextrakten, wenn sie einmal angefangen hatte, um so länger. Diese Beobachtungen galten für *B. anthracis*, *B. proteus*, Pneumo-, Strepto- und Staphylokokken.

Während der letzten Zeit sind die Leukocyten seitens mehrerer Forscher Gegenstand lebhaften Interesses gewesen. Auch auf die von mir angegebenen Verschiedenheiten betreffs der Wirkungsweise haben einige ihre Aufmerksamkeit gelenkt, ohne diese bestätigen zu können. Nach Schneider (1) soll die langsamere Wirkung, die die Endolysine im Vergleich zum Serum und den Leukinen haben sollen, kein eigentliches Unterscheidungsmerkmal sein und nur auf einer geringeren keimtötenden Kraft der Leukocytenextrakte beruhen. Weil glaubt, daß es sicherlich nur ausnahmsweise zutrifft, daß die Leukocyten sehr langsam wirken, und hat keinen Unterschied zwischen den betreffenden Substanzen in dieser Hinsicht wahrgenommen (2).

Eine richtige Auffassung von der bakteriolytischen Wirkung einer Substanz kann nur durch die Bestimmung der Abnahmegeschwindigkeit der in sie eingeführten Bakterien erlangt werden. Um diese zu berechnen, ist eine genügende Menge einigermaßen genauer Bestimmungen der Anzahl der zu geeigneten Zeitpunkten überlebenden Bakterien nötig. Die einzige für diesen Zweck brauchbare Methode besteht darin, die in einer bestimmten Menge der Aufschwemmung vorhandenen Bakterien auf der Platte zu züchten und die aufgegangenen Kolonien zu zählen. Um ein zuverlässiges Resultat zu erlangen, ist es natürlich nötig, daß die Bakterien der Aufschwemmung isoliert sind oder wenigstens in gleich großen Verbänden, z. B. als Diplokokken, vorkommen. Dies ist aber betreffs mehrerer Bakterien, wie Milzbrandbacillen, Streptokokken u. a., nicht zu erreichen.

Die bakterientötende Wirkung mehrerer Stoffe, wie Metallsalze, Phenol und anderer Produkte des Steinkohlenteers, feuchter Wärme u. a., sind schon von Chick (3), Madsen und Nym an (4) studiert worden. Die Abnahmegeschwindigkeit wurde proportional zu der Anzahl der vorhandenen Bakterien gefunden laut der Formel

$$\frac{dx}{dt} = K (a - x),$$

wo a die Anzahl Bakterien am Anfang der Bakteriolyse, x die während der Zeit t zugrunde gegangenen Bakterien bezeichnet und die Konstante K die Verminderungsgeschwindigkeit der Bakterienmenge angibt.

Chick (5) hat auch die Einwirkung des Kaninchenserums auf *B. coli* und die des Ziegenserums auf *B. typhi* studiert. Im ersteren Falle erfolgte die Bakteriolyse in drei getrennten Stadien. Zuerst eine Periode, während deren die Bakterienzahl unvermindert blieb oder auch eine unbedeutende Abnahme erfuhr, sodann ein Zeitabschnitt von Bakterienvermehrung, worauf eine mehr oder weniger intensive Bakterizidie einsetzte. Bei der Einwirkung von Ziegenserum auf Typhusbacillen fing die Bakterizidie sofort an. Auch diese durch das Serum hervorgerufene Bakteriolyse ließ sich durch die obengenannte Gleichung ausdrücken.

Im folgenden werden einige Versuche wiedergegeben, welche die Einwirkung von Serum bzw. von Extrakt auf normale Leukocyten einiger verschiedenen Tiere veranschaulichen wollen. Die Versuche wurden bei $+ 38^{\circ} \text{C}$ ausgeführt. Folgende Versuchsanordnung wurde eingehalten.

Die Menge der Bakterienaufschwemmung, deren Keimzahl durch die Plattenmethode bestimmt werden sollte, wurde mit in 0,01 ccm graduierten Pipetten herausgenommen. Durch Vorversuche war bestimmt worden, wieviel Bakterien ungefähr zu den verschiedenen Zeitpunkten in der Probe angenommen werden konnten. Hierauf wurde für die Platten entweder 0,1, 0,05 ccm oder auch ein Tropfen aus einer Pipette, die Tropfen von ganzen $\frac{1}{100}$ ccm gab, genommen. Die in den Tabellen wiedergegebenen Zahlen entsprechen, wenn nichts anderes angegeben wird, 0,1 ccm. Platten, die nicht mehr als 5000 Kolonien enthielten, wurden vollständig gezählt. Bei größerer Menge von Kolonien wurden gleichmäßig verteilte Sektoren gezählt oder auch die Anzahl der Kolonien durch Anwendung einer Zählplatte bestimmt. Wenn man kurz vor dem Plattengießen den Boden der Schale mit einer dünnen Schicht Agar bedeckt, so daß eine völlig ebene und horizontale Fläche erhalten wird, so werden die Kolonien sehr gleichmäßig verteilt, und man bekommt auch beim Zählen nur eines Teiles der Platte gut übereinstimmende Werte. In der Regel wurden für jede Keimzählung zwei Platten angefertigt. Die angegebene Menge stellt den Mittelwert der aus diesen erhaltenen Zahlen dar.

Von vornherein war anzunehmen, daß ein großer Ueber-schuß von bakteriolytischen Stoffen einen schleunigeren Unter-gang der Bakterien hervorrufen würde als eine im Vergleich zu den Bakterien sozusagen äquivalente Menge, d. h. wenn die bakteriziden Substanzen eben noch genügen, eine deutliche Bakteriolyse hervorzurufen. Durch Vorversuche wurde für jedes Serum bzw. Leukocytenextrakt die größte Einsaat ermittelt, bei welcher die bakteriolytische Wirkung der zu untersuchenden Lösung sich noch bemerkbar machte. Da-nach wurde die Einsaat des definitiven Versuches abgepaßt. Wenn die Anzahl der Bakterien voraussichtlich so groß wurde, daß sie Schwierigkeiten bei der Zählung der Ko-lonien bereitete, so wurde die Untersuchungsflüssigkeit ver-dünnt.

Die in den folgenden Tabellen mitsamt den beobachteten Werten angegebenen berechneten sind mittels der Formel

$$\log \frac{a-x_0}{a-x_1} = K (t_1 - t_0),$$

die durch Integrierung der vorigen erhalten wird, und der bei jeder Tabelle angegebenen Konstante berechnet. Die zu ihrer Berechnung benutzten Werte sind eingeklammert. $a-x_0$ und $a-x_1$ bezeichnen die Anzahl der bei den willkürlich gewählten Zeiten t_0 und t_1 überlebenden Bakterien.

Tabelle I.

Mit gleicher Menge Kochsalzlösung verdünntes Meerschweinchenserum.
Einsaat: *B. typhi*.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
4	23 000	26 590	50	3220	(3220)
10	20 170	(20 170)	55	2435	2530
15	17 445	16 020	60	1802	2017
20	13 400	12 730	75	922	1010
25	10 090	10 110	90	578	506
30	8 550	8 030	120	426	127
35	7 480	6 379	180	489	7
40	5 180	5 067	240	516	—
45	4 060	4 025	300	375	—

Konst. = 0,02

Die beobachteten und die berechneten Werte zeigen für die Zeit von 15—90 Minuten sehr gute Uebereinstimmung. Nach 4 Minuten ist der berechnete Wert nicht unbedeutend höher als der beobachtete. Dies dürfte bedeuten, daß die Bakteriolyse zu dieser Zeit noch nicht richtig in Gang gekommen war. Es dauert natürlich einige Zeit, bis die bakteriolytischen Stoffe die Zellenmembran der Bakterien durchdrungen haben. Nach 90 Minuten sind die berechneten Werte wesentlich kleiner als die beobachteten. Ich werde hierauf später zurückkommen.

Tabelle II.

Unverdünntes Kaninchenserum. Einsaat: *B. typhi*.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	50 000	120 000	30	3500	3425
4	54 300	74 760	45	458	619
10	36 700	(36 700)	60	(63)	(63)
15	24 190	21 730	75	63	16
20	11 900	11 210	90	24	2
25	7 600	6 440			

Konst. = 0,0515

Tabelle III.

Unverdünntes Kaninchenserum. Einsaat: B. coli.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	20 240	22 500	50	8140	—
4	19 800	(19 800)	60	9713	13 545
10	15 582	16 270	75	9074	(9 074)
15	14 023	13 500	105	4709	4 072
20	12 421	11 730	120	2274	2 695
30	8 458	(8 458)	180	585	(585)
	Konst. = 0,0142		240	323	110
			300	149	22
			540	79	—
				Konst. = 0,0116	

Die Einwirkung des Kaninchensersums auf B. coli zeigt die Eigentümlichkeit, daß nach einiger Zeit eine Pause der Bakterienabnahme eintritt. Während dieser Zeit kann sogar eine Keimvermehrung eintreten. Danach setzt die Bakterizidie wieder ein. Auch im folgenden Versuch mit Pferdeserum wird eine solche Pause sichtbar.

Tabelle IV.

Unverdünntes aktives und $\frac{1}{2}$ Stunde auf $+56^{\circ}$ erwärmtes Pferdeserum. Einsaat: B. coli. Die Zahlen der Bakterien beziehen sich auf einen Tropfen von nicht ganz 0,03 ccm.

Aktives Serum			Inakt. Serum
t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	a-x beobacht.
0	—	8330	7 509
2	7960	(7960)	7 134
5	7880	7358	7 365
10	6309	6457	6 908
15	5342	5660	7 077
20	4969	(4969)	7 242
30	4642	Konst. = 0,01137	6 618
45	4092	(4092)	7 392
60	2528	1920	8 109
75	928	901	8 370
90	533	423	8 775
120	94	(94)	—
180	26	4	15 741
360	12	—	starke Vermehr.
480	3	Konst. = 0,0219	

Tabelle V.

Unverdünntes Pferdeserum. Einsaat: B. coli.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
4	23 360	—	75	569	489
10	8 910	—	90	126	203
15	2 405	—	105	51	84
30	1 425	—	120	35	(35)
45	1 410	—	180	20	1
60	1 182	(1182)	240	12	—

Konst. = 0,0225

Der letzte Versuch ist im Anfang nicht besonders gelungen, ergibt aber, daß die Bakeriolyse während zwei Perioden rascher verlaufen ist, und er zeigt eine gewisse Uebereinstimmung mit dem in Tabelle III wiedergegebenen, was noch deutlicher aus den Kurven in der Fig. 1 hervorgeht

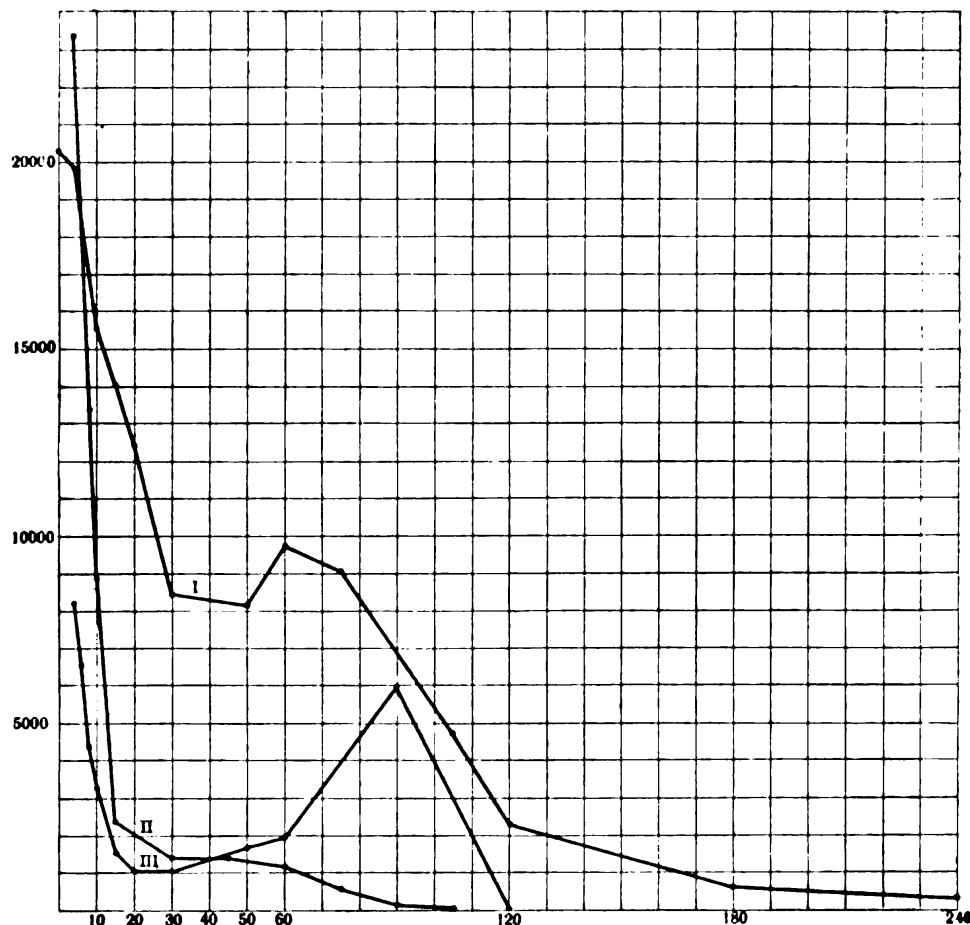


Fig. 1. Die Einwirkung von I. Kaninchenserum, II. Pferdeserum und III. Kaninchenleukocytenextrakt auf B. coli.

Diese erinnern auch an Chicks Kurve für den bei +40° angestellten Versuch. Solche Unterbrechungen der Bakteriolyse kommen aber nicht immer vor. In mehreren Versuchen, wie z. B. den zwei folgenden, wurden sie vermißt.

Tabelle VI.

Unverdünntes Kaninchenserum. Einsaat: B. coli.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	30 210	(30 210)	60	5 250	—
10	26 040	22 570	75	6 125	—
15	17 240	17 710	90	9 640	—
30	5 820	5 820	105	12 210	—
45	4 113	(4 113)			

Konst. = 0,0211

Tabelle VII.

Mit gleicher Menge Kochsalzlösung verdünntes Kaninchenserum.
Einsaat: B. coli.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
15	7440	6820	240	2416	2350
30	6330	(6330)	300	1770	(1770)
45	5680	5773	360	922	1385
60	4700	5383	420	408	—
120	3560	4087	540	96	—
180	3100	3100	600	54	—

Konst. = 0,002

Nach etwas größerer Einsaat trat in der gleichen Verdünnung desselben Serums wie im letzten Versuche nach 4 Stunden stetige Vermehrung ein.

Wenn man annimmt, daß sowohl die erste als die zweite Bakterienabnahme durch die Wirkung eines bakteriolytischen Stoffes hervorgerufen ist, so kann ein solcher Verlauf der Bakteriolyse nicht gut durch ein einziges Bakteriolysin bedingt sein. Es liegt keine Veranlassung vor, anzunehmen, daß seine Wirkung während einiger Zeit wegfallen sollte. Es ist auch nicht wahrscheinlich, daß die erste Abnahme der Bakterien nur auf der schädlichen Einwirkung des neuen Mediums auf die Bakterien beruhte. Dazu ist sie zu intensiv. Wie aus der Tabelle IV hervorgeht, ist die Bakterienabnahme im inaktivierten Serum sehr unbedeutend. Beruhte die erste Herabsetzung der Zahl der Bakterien nur auf der Uebertragung

in ein neues Medium, so müßte eine etwa gleich große Bakterienabnahme im inaktivierten wie im aktiven Serum auftreten. Dies ist nicht der Fall. Dagegen würde ein solcher Verlauf der Bakteriolyse eintreten, wenn die eingesäten Bakterien von wesentlich verschiedener Widerstandsfähigkeit gegen das Bakteriolysin wären. Einen so großen Unterschied zwischen den Individuen dürfte man jedoch in einer Reinkultur kaum erwarten können. Ich habe auch keine Veranlassung gehabt, die Reinheit meiner Colikultur anzuzweifeln. Sehr eigentümlich wäre es auch, wenn sowohl Chick als ich nicht mit Reinkulturen und zwar nur von *B. coli* gearbeitet hätten.

Der gefundene Gang der Bakteriolyse läßt sich aber sehr gut durch die Annahme erklären, daß die Sera zwei auf *B. coli* wirkende Stoffe enthalten, von denen die Wirkung des einen später zutage tritt. Diese Annahme erscheint nicht befremdend. Wir wissen ja schon, daß gewisse Sera auch gegenüber *B. anthracis* zwei wirkende Substanzen enthalten. Daß bisweilen keine Unterbrechung der Bakteriolyse wahrgenommen wird, kann darauf beruhen, daß die Wirkungen der beiden Stoffe ineinander greifen, oder auch daß der eine von ihnen fehlt. Im folgenden Versuche, wo die erste Herabsetzung des Bakteriengehalts vollständig vermißt wird, scheint das letztere der Fall gewesen zu sein.

Tabelle VIII.

Unverdünntes aktives und $\frac{1}{2}$ Stunde auf $+ 58^{\circ}$ erwärmtes Kaninchenserum. Einsaat: *B. coli*. Die Bakterienzahlen beziehen sich auf einen Tropfen von ein wenig mehr als 0,03 ccm.

t (Min.)	Aktives Serum	Inakt. Serum	t (Min.)	Aktives Serum	Inakt. Serum
0	—	4324	45	3119	—
2	4080	3652	60	3123	3 246
5	3441	3575	90	1232	9 304
10	3559	3748	120	618	25 000
15	3467	3308	180	279	starke
20	2847	3440	230	227	Verm.
30	3086	3167			

Wenn man die durch die Versuche erhaltenen Werte der zu den verschiedenen Zeiten überlebenden Bakterien studiert, so ergibt sich, daß sie sich, auch in den Versuchen, die den regelmäßigsten Verlauf der Bakteriolyse zeigen, nur während

eines mehr oder weniger langen mittleren Zeitabschnittes in die angegebene Formel hineinpassen lassen. Im Anfang und am Ende zeigen die beobachteten Werte immer verhältnismäßig große Abweichungen von den berechneten. Im Anfang sind die ersteren meistens zu klein, am Ende dagegen gewöhnlich zu groß. Die erste Abweichung läßt sich befriedigend dadurch erklären, daß die Wirkung des bakteriolytischen Agens natürlich nicht augenblicklich eintritt. Wie man sich auch die Entstehung der Bakteriolyse vorstellt, immer muß einige Zeit vergehen, ehe die Zelle so stark geschädigt ist, daß sie sich nicht weiter entwickelt. Für *B. coli* und *B. typhi* ist diese Zeit offenbar so lang, daß sie sich auch bei den hier eingehaltenen, verhältnismäßig langen Zeitintervallen zwischen der Einsaat und der Herausnahme der ersten Proben durch zu geringe Herabsetzung der Bakterienzahl bemerkbar macht.

Die Ursache der letzteren Erscheinung, der zu langsamen Abnahme der Bakterien in den späteren Stufen der Bakteriolyse, ist wahrscheinlich darin zu suchen, daß nicht alle Bakterien die gleiche Struktur besitzen. Bekanntlich kann man eine bedeutende Erhöhung der Virulenz einer schwach virulenten Kultur z. B. von *B. typhi* dadurch erreichen, daß man eine Menge der Bakterien in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens einführt, nach einiger Zeit eine Probe herausnimmt und davon eine Kultur anlegt. Diese wird in der Regel größere Virulenz zeigen als die Ausgangskultur. Durch die Bakteriolyse im Meerschweinchen werden die eingeführten Keime vernichtet. Die, welche sich am längsten erhalten, sind natürlich die widerstandsfähigsten, d. h. die virulentesten, und eine Probe von diesen gibt eine virulentere Kultur. Dieselbe Selektion wie im Tierkörper findet offenbar auch in der Reagenzröhre statt. Wenn die Bakteriolyse eine Weile fortgedauert hat, sind nur widerstandsfähige Bakterien übrig, die, wenn überhaupt, nur langsam zugrunde gehen.

Bacillus subtilis, *B. anthracis* und *B. proteus* stellen, wie bekannt, eine Gruppe von Bakterien dar, gegenüber welchen die Kaninchen- und Pferdesera sich in gewissen Beziehungen andersartig verhalten als gegen andere Bakterien. Unter

anderem wird die Bakteriolyse dadurch gekennzeichnet, daß sie außerordentlich rasch einsetzt. Wie mehrmals hervorgehoben worden ist, eignen sich diese Bakterien nicht sehr gut für Bakterizidieversuche mit der Plattenmethode. Eine aus isolierten Individuen bestehende Aufschwemmung läßt sich von ihnen nicht darstellen. Wenigstens im Anfang des Versuches ist also jede auf der Platte aufgegangene Kolonie aus einer Mehrzahl Individuen entstanden. Ein wahres Bild der Lyse dieser Bakterien kann somit in dieser Weise nicht erhalten werden. Vereinigt man die bei dem Versuche erhaltenen Werte der überlebenden Bakterien zu einer Kurve, so zeigt diese indessen einen regelmäßigen und in gewissem Grade charakteristischen Verlauf.

Tabelle IX.

Mit zwei Teilen Kochsalzlösung verdünntes Kaninchenserum. Einsaat: *B. subtilis*. Zwei Versuche.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	33 700	21 080	35 000	25 940
4	15 840	(15 840)	20 000	(20000)
10	10 500	10 320	13 360	13 530
15	7 984	7 225	8 600	9 774
30	1 870	2 476	3 294	3 680
60	290	(290)	522	(522)
120	78	4	286	10
180	22	—	107	—
240	18	—	93	—
300	20	—	—	—
360	17	—	2 353	—
420	13	—	10 000	—
42 ^t				

Konst. = 0,031

Konst. = 0,02827

Tabelle X.

Mit zwei Teilen Kochsalzlösung verdünntes Pferdeserum. Einsaat: *B. subtilis*.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	80 000	10 010	180	154	—
4	21 000	7 756	240	137	—
10	5 290	(5 290)	300	142	—
15	3 160	3 845	360	111	—
30	912	1 470	480	432	—
60	218	(218)	600	480	—
120	164	4	720	5560	—

Konst. = 0,0277

Tabelle XI.

Zwei verschiedene unverdünnte Kaninchensera. Einsaat: *B. anthracis*.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	—	—	3500	(3500)
2	1400	(1400)	1842	2100
5	1177	991	377	524
10	482	557	78	(78)
15	217	313	26	11
30	55	(55)	18	—
45	56	10	10	—
60	45	—	4	—
90	—	—	3	—
		Konst. = 0,05	Konst. = 0,165	

Tabelle XII.

Mit drei Teilen gewöhnlicher Bouillon verdünntes Kaninchenserum.
Einsaat: *B. proteus* Zenkeri.

t (Min.)	a-x beobacht.	t (Min.)	a-x beobacht.
0	19 340	45	376
2	16 150	60	282
3	8 016	120	332
5	842	180	343
10	910	240	456
15	440	360	starke
30	382		Verm.

Im letzten Versuche ist die Bakteriolyse so rasch verlaufen, daß die gemachten Beobachtungen zu wenige sind, um die Berechnung einer Reaktionskonstante zu gestatten.

Die genannten Bakterien erleiden alle eine sehr rasche Abnahme im Kaninchen- und Pferdeserum. Nur ausnahmsweise kommen Sera vor, die wenig wirksam sind. Die Reaktionskonstanten der wiedergegebenen Versuche sind im allgemeinen etwas größer als in den meisten Versuchen mit *B. typhi* und *B. coli*. Sie geben indessen keinen richtigen Ausdruck für die Geschwindigkeit der Bakterienabnahme. Man muß sich nämlich erinnern, daß die aus den im Anfang des Versuches entnommenen Proben aufgegangenen Kolonien in der Tat etwa 5—10 oder sogar noch mehr Bakterienindividuen entsprechen. Die Bakterienhaufen zerfallen aber bald, so daß die Bacillen isoliert werden. Die bei den späteren Probenentnahmen erhaltenen Kolonien sind also aus einzelnen oder ein paar Bacillen und auf jeden Fall aus einer weit kleineren Zahl Individuen als anfangs entstanden. Es leuchtet somit ein, daß die Bakteriolyse im Anfang weit schneller verläuft,

als es die durch die Plattenmethode erhaltenen Werte der überlebenden Bakterien vermuten lassen. Die Versuche geben das Bild eines weit langsameren Verlaufs der Bakteriolyse, als es in Wirklichkeit der Fall ist. Nichtsdestoweniger waren in mehreren Fällen die auf Grund der Beobachtungen, die sich in die Formel einpassen lassen, berechneten Werte der überlebenden Bakterien zu Anfang des Versuches und zu den Zeiten gleich danach mehrmals (siehe die Tabellen IX und X) bedeutend niedriger als die beobachteten. Diese Erscheinung dürfte meiner Ansicht nach in der Weise zu deuten sein, daß bei den hier eingehaltenen Zeitintervallen zwischen den Entnahmen der Proben die vorgenommenen Bestimmungen der Anzahl der Bakterien, erst nachdem die Geschwindigkeit der Bakteriolyse recht bedeutend abgenommen hat, genügen, um eine Berechnung der Abnahmegeschwindigkeit zu gestatten. In der Hinsicht, daß die Bakteriolyse durch Serum stufenweise verlangsamt wird, ähneln diese Bakterien den Typhus- und Colibacillen. Die gemachten Beobachtungen deuten nun darauf hin, daß die gegen Subtilis-, Milzbrand- und Proteusbacillen wirksamen Substanzen des Kaninchen- und Pferdeserums für diese Organismen äußerst rasch wirkende Gifte sind.

Ich gehe nun zu einigen Untersuchungen über die Wirkungsweise der bakteriziden Leukocytenstoffe über. Um diese zu studieren, habe ich mich des Gefrierextraktes der Leukocyten bedient. Nur was *Staphylococcus aureus* betrifft, habe ich ein nach Schneiders Angaben dargestelltes Digest der Leukocyten benutzt.

Tabelle XIII.

Extrakt von normalen Kaninchenleukocyten mittels Kochsalzlösung, 0,25 g Leukocyten per 1 ccm. Einsaat: *B. typhi*. Die Bakterienzahlen beziehen sich auf einen Tropfen von 0,03 ccm.

t (Min.)	a—x beobacht.	a—x berechn.	t (Min.)	a—x beobacht.	a—x berechn.
0	3388	(3888)	60	1211	—
2	3035	3090	75	1141	—
5	2875	2700	90	1139	—
10	2122	2152	120	816	—
15	1717	(1717)	150	405	—
30	1414	—	180	1567	—
45	1296	—	210	4059	—
	Konst. = 0,0197			danach kontin. Vermehrung	

Tabelle XIV.

Extrakt von normalen Kaninchenleukocyten mittels Kochsalzlösung, 0,12 g per 1 ccm. Einsaat: B. coli. Die Bakterienzahlen beziehen sich auf einen Tropfen von 0,03 ccm.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
2	—	10 560	30	1018	—
4	8200	(8 200)	40	1372	—
6	6570	6 360	50	1610	—
8	4404	4 945	60	1932	—
10	3246	3 841	75	—	—
15	1590	2 038	90	4976	—
20	1085	(1 085)	120	24	—
25	1094	574			
Konst. = 0,055					

Die Lyse des B. typhi und die des B. coli im Extrakte von Kaninchenleukocyten zeigen eine deutliche Uebereinstimmung in bezug auf den Verlauf. Zuerst eine rasche Abnahme der Bakterien, sodann Stillstand oder sogar, was B. coli betrifft, Vermehrung und schließlich wiederum rasches Absterben. Sogar die Zeiten der verschiedenen Phasen fallen einigermaßen zusammen. Es tritt uns hier dieselbe Erscheinung entgegen wie bei der Lyse von B. coli durch das Kaninchen- und Pferdeserum. Betreffs dieser Bakterie ist somit kein Unterschied zwischen der durch das Serum und der durch die bakteriziden Leukocytenstoffe hervorgerufenen Bakteriolyse gefunden worden. Das Absterben der Typhusbacillen im Extrakte von Kaninchenleukocyten weicht dagegen von der im Kaninchenserum auftretenden Bakteriolyse bedeutend ab.

Tabelle XV.

Extrakt von normalen Kaninchenleukocyten mittels Kochsalzlösung, 0,25 g per 1 ccm. Einsaat: B. subtilis.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	6416	(6416)	60	3880	3470
4	6188	6160	120	1343	1870
10	6028	5790	240	547	(547)
15	5439	5510	420	402	86
30	4516	4720	12 t	87	4
Konst. = 0,0445					

Tabelle XVI.

Extrakt von normalen Kaninchenleukocyten mittels Kochsalzlösung,
0,5 g per 1 ccm. Einsaat: B. anthracis. Zwei verschiedene Versuche.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	a-x beobacht.	a-x berechn.
10	1320	(1320)	934	(934)
30	1292	1233	741	766
60	1225	1139	678	570
75	1083	1056	350	—
120	887	907	164	317
180	715	739	96	137
240	603	(603)	—	(96)
300	578	491	62	25
360	440	400	39	39
390	402	361	—	—
540	316	261	—	—

Konst. = 0,00148

Konst. = 0,0043

Die Wirkung des Kaninchenleukocytenextraktes sowohl auf B. subtilis als auf B. anthracis wird durch einen sehr langsamen Verlauf gekennzeichnet. Die Reaktionskonstante ist bedeutend, gegen 10mal, kleiner als die bei den Versuchen mit Serum und denselben Bakterien erhaltene. Jedoch war diese, wie hervorgehoben wurde, sicher zu klein, um der wirklichen Abnahmegeschwindigkeit entsprechen zu können. Die langsame Abnahme der Bakterien beruht nicht, wie Schneider glaubt, auf einem Mangel an bakteriziden Leukocytenstoffen, sondern ist der Ausdruck einer charakteristischen Eigenschaft der letzteren. Das Zugrundegehen der Bakterien verlief nämlich, auch wenn die Einsaat kleiner war, nach demselben Typus. Die Größe der Einsaat war in den wiedergegebenen Versuchen derartig bemessen, daß alle eingeführten Keime zugrunde gingen, oder daß wenigstens innerhalb 24 Stunden keine Vermehrung der nicht getöteten Bakterien eintrat. Ich halte es deshalb für nachgewiesen, daß betreffs der genannten Bakterien ein deutlicher Unterschied in der Wirkungsweise vorhanden ist zwischen den bakteriziden Stoffen der Leukocyten und denen des Serums.

Tabelle XVII.

Extrakt von normalen Kaninchenleukocyten mittels Bouillon, 0,25 g per 1 ccm. Dieses Extrakt wurde bei den Versuchen mit Bouillon in verschiedenen Verhältnissen verdünnt. Hier werden nur die Verdünnungen 1:4, 1:12 und 1:18 wiedergegeben. Einsaat: B. proteus Zenkeri.

t (Min.)	Verd. 1:4		Verd. 1:12		Verd. 1:18	
	a-x beobacht.	a-x berechn.	a-x beobacht.	a-x berechn.	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	—	—	—	—	5064	—
2	17 680	—	—	—	—	—
5	12 113	—	13 290	—	4708	—
10	3 441	2447	7 900	5991	4672	3688
15	2 154	(2154)	5 340	(5340)	3660	(3660)
30	1 002	1038	3 432	3780	3624	3569
45	539	500	2 865	2676	—	—
60	216	230	2 264	1895	3256	3418
75	136	116	—	—	—	—
90	78	56	—	—	—	—
120	13	(13)	850	476	3223	3120
180	—	—	120	(120)	2940	2846
240	—	—	40	30	2596	2600
300	—	—	40	5	2504	2373
360	—	—	—	—	2164	(2164)
24 t	Konst. = 0,0211		Konst. = 0,01		Konst. = 0,00066	

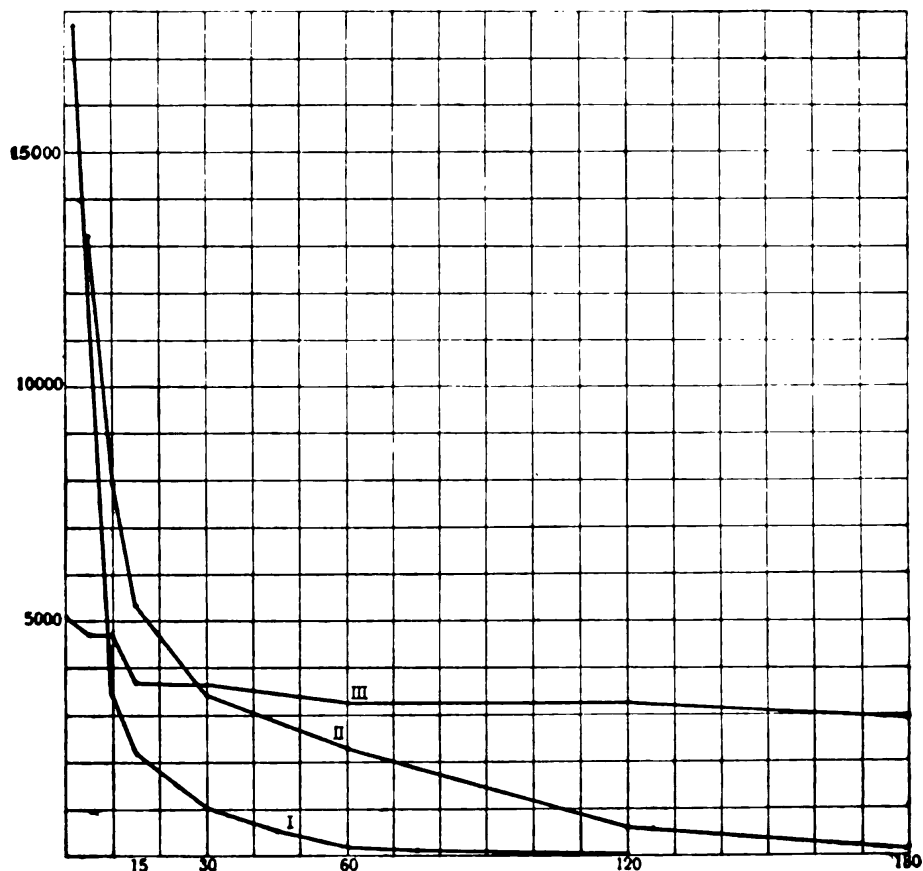


Fig. 2. Die Einwirkung von Kaninchenleukocytenextrakten auf *B. proteus* Zenkeri. I: Verdünnung 1:4, II: 1:12 und III: 1:18.

Die Versuche mit den stärkeren Konzentrationen des Leukocytenextraktes schienen das Resultat zu geben, daß die durch die bakteriziden Stoffe der Leukocyten hervorgerufene Bakterizidie ungefähr denselben Verlauf hatte wie die durch das Serum verursachte. Die Versuche mit den stärkeren Verdünnungen ließen aber die Unrichtigkeit davon erkennen. Wenn die bakteriziden Leukocytenstoffe im Verhältnis zu der Menge Bakterien in großem Ueberschuß vorhanden sind, verläuft die Bakterienabnahme äußerst rasch wie im Serum. Enthält aber die Lösung diese Stoffe nur in einer solchen Menge, daß sie eben zur Lyse der eingeführten Bakterien hinreichen, so verläuft auch das Zugrundegehen des *Proteus Zenkeri* sehr langsam. Nur anfangs scheint es etwas rascher zu erfolgen (Fig. 2 auf p. 319).

Im folgenden werden einige Versuche über die Einwirkung der bakteriziden Stoffe der Kaninchenleukocyten auf Strepto-, Pneumo- und Staphylokokken wiedergegeben. Da diese vom Kaninchenserum nicht beeinflußt werden, muß zum Vergleich die Wirkung dieses Serums auf andere Bakterien herangezogen werden.

Tabelle XVIII.

Extrakt von normalen Kaninchenleukocyten mittels Kochsalzlösung, 0,28 g per 1 ccm. Einsaat: *Streptococcus pyogenes*. Zwei Versuche.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	3539	—	766	—
15	—	—	745	—
30	4491	(4491)	773	(773)
60	4217	4070	670	630
120	3332	3340	560	418
180	—	—	250	273
240	—	—	183	(183)
300	1844	(1844)	158	123
540	1574	837	100	—
24 t	—	—	40	—
Konst. = 0,00143			Konst. = 0,00296	

Die Abnahme der Streptokokken im Leukocytenextrakte fängt erst nach einer Latenzperiode von etwa $\frac{1}{2}$ Stunde an. Diese sozusagen Inkubationszeit kann noch länger dauern,

und während dieser können die Kokken sich nicht unbedeutend vermehren. Großer Ueberschuß der bakteriziden Stoffe verkürzt die Latenzzeit. Die Lyse der Kokken verläuft gleich wie die der Subtilis-, Milzbrand- und Proteusbacillen mit geringer Geschwindigkeit, fährt aber um so länger fort.

Tabelle XIX.

Extrakt von normalen Kaninchenleukocyten mittels Kochsalzlösung, 0,25 g per 1 ccm. Einsaat: *Diplococcus pneumoniae*.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	18 081	—	20	1000	—
5	14 040	(14 040)	30	368	—
10	5 034	4 970	40	33	—
15	1 760	(1 760)	50	4	—

Konst. = 0,09019

Tabelle XX.

Extrakt von normalen Kaninchenleukocyten mittels Ascitesbouillon, 0,3 g Leukocyten per 1 ccm. Einsaat: *Diplococcus pneumoniae*. Zwei Versuche.

t (Min.)	a-x beobacht.	a-x berechn.	a-x beobacht.	a-x berechn.
0	1032	—	2710	3713
15	1162	—	—	—
30	1119	—	—	—
60	1135	—	1621	(1621)
120	1170	—	746	890
180	1202	1480	313	308
240	748	(748)	127	134
300	374	378	59	(55)
360	155	192	9	25
450	69	(69)	—	—
630	4	—	—	—

Konst. = 0,0246

Konst. = 0,006

Die Bakteriolyse der Pneumokokken verläuft im Kochsalzextrakte sehr rasch. Die Kochsalzlösung ist indes keine für die Pneumokokken ganz indifferente Flüssigkeit, und das aus den Leukocyten extrahierte Eiweiß ist, abgesehen von den bakteriziden Stoffen, keineswegs genügend, um das Extrakt zu einer für die Pneumokokken geeigneten Nährflüssigkeit zu machen. Deshalb wurden weitere Versuche mit Leukocytenextrakten, zu deren Herstellung Bouillon mit 10 Proz. Ascites verwendet worden war, angestellt.

Es erwies sich da, daß die Bakteriolyse in dem Ascitesbouillon enthaltenden Extrakte weit langsamer verlief, ihre Geschwindigkeit näherte sich der für Subtilis-, Milzbrand- und Proteusbacillen gefundenen. Die Verhältnisse sind aber durch den Zusatz von Ascites, einer die Bakteriolyse der Leukocytenstoffe hemmenden Substanz, ein wenig komplizierter geworden. In Anbetracht ihrer geringen Konzentration dürfte aber ihre hemmende Wirkung sehr gering gewesen sein.

Tabelle XXI.

0,15 g normale Kaninchenleukocyten wurden $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+38^{\circ}\text{C}$ mit 5,0 ccm 5-proz. Kaninchenserum digeriert, wonach die Leukocyten durch Zentrifugieren entfernt wurden. Einsaat: Staphylococcus aureus.

t	a-x	a-x	t	a-x	a-x
(Min.)	beobacht.	berechn.	(Min.)	beobacht.	berechn.
4	7500	—	150	1700	1343
15	6750	—	180	522	430
30	6980	—	240	44	(44)
60	6500	—	300	253	—
120	4200	(4200)	360	1403	—

Konst. = 0,0165

Die durch das Leukocytenextrakt hervorgerufene Lyse der Staphylokokken zeigt auch einen sehr langsamen Gang, bedeutend langsamer als bei der Einwirkung von Serum auf die hier untersuchten Bakterien. Die Geschwindigkeit der Abnahme der Staphylokokken ist jedoch immer etwas rascher als die beim Einwirken des Leukocytenextraktes auf Strepto- und Pneumokokken, Subtilis-, Milzbrand- und Proteusbacillen.

In den wiedergegebenen Versuchen sind mehrmals Unregelmäßigkeiten zum Vorschein gekommen, und die mit derselben bakteriolytischen Flüssigkeit und denselben Bakterien angestellten Versuche sind öfters nicht ganz vergleichbar, indem bisweilen recht verschiedene Reaktionskonstanten erhalten worden sind. Dies kann aber nicht sehr wundernehmen. Weder die Lösung der bakteriolytischen Substanz noch die Bakterienkultur ist konstant. Die Bakteriolyse sind einer stetigen Abschwächung unterworfen, und die Bakterien sind je nach ihrem Alter gegen die bakteriziden Stoffe

verschieden resistent. Infolgedessen sind die reagierenden Substanzen zweier Versuche, die nicht gleichzeitig angestellt worden sind, niemals völlig gleich, und die Abnahmegeschwindigkeit der Bakterien kann somit nicht dieselbe werden. Trotz diesen Unregelmäßigkeiten ist aber nicht zu bestreiten, daß die Versuche dargetan haben, daß die Bakteriolyse oft einen verschiedenen Verlauf zeigt, je nachdem es sich um verschiedene bakteriolytische Stoffe oder um verschiedene Bakterien handelt.

Auch in betreff der durch die bakteriziden Leukocytenstoffe hervorgerufenen Bakteriolyse ist die Geschwindigkeit der Bakterienabnahme proportional der Menge vorhandener Bakterien. Wie bei der Serumbakteriolyse verläuft die Lyse auch hier nicht die ganze Zeit gleichförmig. Im allgemeinen wird sie am Ende langsamer. Im Anfang kann sie sich verschieden verhalten. *B. proteus* scheint gleich im Anfang rasch an Zahl abzunehmen, während die Beeinflussung der Strepto-, Pneumo- und Staphylokokken durch die bakteriziden Leukocytenstoffe einige Zeit in Anspruch nimmt.

Z u s a m m e n f a s s u n g.

Sowohl die durch Serum als die durch bakterizide Leukocytenstoffe hervorgerufene Bakteriolyse ist dadurch charakterisiert, daß die Abnahmegeschwindigkeit der Bakterien der Anzahl der vorhandenen proportional ist.

Die Lyse verläuft nur während einer kürzeren Zeit annähernd gleichförmig. Gegen das Ende der bakteriolytischen Periode nimmt die Geschwindigkeit der Bakteriolyse in der Regel ab. Dies läßt sich ungezwungen dadurch erklären, daß die Probe dann nur resistentere Bakterien enthält.

Kaninchen und Pferdesera rufen eine Lyse von *B. coli* und *B. typhi* hervor, die anfangs langsamer verläuft als später, während die Lyse von *B. subtilis*, *B. anthracis* und *B. proteus* fast sofort einsetzt und außerdem die ganze Zeit viel rascher vor sich geht.

Die durch Kaninchen- und Pferdesera an *B. coli* und durch Kaninchenleukocytenstoffe an *B. coli* und *B. typhi* hervorgerufene Lyse hat gewöhnlich einen sehr charakteristischen

Verlauf, indem sie nach einiger Zeit sehr verlangsamt oder sogar vollständig aufgehoben wird, um danach wieder einzusetzen. Diese Erscheinung ist wahrscheinlich in der Weise zu erklären, daß die betreffenden Substanzen mehrere bakterizide Stoffe von verschiedener Latenzzeit der Wirkung enthalten.

Die durch das Kaninchenserum und die Kaninchenleukocyten veranlaßte Lyse von *B. typhi* kennzeichnet sich somit durch ganz verschiedenen Verlauf, wogegen die Lyse von *B. coli* durch die genannten Substanzen keinen Unterschied zeigt.

Was *B. subtilis*, *B. anthracis* und *B. proteus* betrifft, so fängt ihre Lyse in Kaninchen- und Pferdeserum fast unmittelbar nach der Einsaat an und vollzieht sich äußerst rasch, während die Bacillen im Leukocytenextrakte nur sehr langsam zugrunde gehen und während der Latenzzeit der Extraktwirkung sich sogar vermehren können.

Die Vernichtung der Strepto- und Staphylokokken durch die bakteriziden Leukocytenstoffe geht viel langsamer von statten als die der hier untersuchten Stäbchen durch das Serum.

Die Pneumokokken gehen in dem mit Kochsalzlösung bereiteten Leukocytenextrakte sehr rasch unter, in dem mit Ascitesbouillon hergestellten aber bedeutend langsamer.

Literatur.

- 1) Schneider, Archiv f. Hygiene, Bd. 75.
- 2) Weil, Archiv f. Hygiene, Bd. 74, p. 301.
- 3) Chick, Journal of Hygiene, Vol. 8 und 10.
- 4) Madsen und Nyman, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 57.
- 5) Chick Journal of Hygiene, Vol. 12.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Königlichen Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirkl. Geh. Rat Professor Dr. P. Ehrlich); Veterinärabteilung: Dr. K. Bierbaum.]

Ueber die Wirkung des Salvarsans auf Rotlaufbacillen in vivo.

Von Dr. K. Bierbaum,

Mitglied des Instituts, z. Zt. als Stabsveterinär im Felde.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Dezember 1916.)

In einer früheren Arbeit (1) habe ich zeigen können, daß das Salvarsan im Mäuseversuch eine ausgesprochene Heilwirkung bei Infektionen mit Rotlaufbacillen ausübt. Neufeld und Schiemann (2) haben diese Tatsache bestätigt und gezeigt, daß es sich hier um eine ganz spezifische Wirkung des Salvarsans auf Rotlaufbacillen handelt, die in vivo und in vitro parallel verläuft. Im Gegensatz zu diesen Befunden konnten Baum und Herrenheiser (3) bei einer Nachprüfung der erwähnten Arbeiten eine keimfeindliche Einwirkung des Salvarsans auf Schweinerotlaufbacillen weder im Tierkörper noch im Reagenzglasversuch nachweisen und schließen hieraus, „daß die positiven Erfolge, die bis jetzt erzielt wurden, offenbar ausschließlich avirulente oder nur sehr wenig infektiöse Stämme betreffen“. Dieser auffällige Gegensatz veranlaßte mich, unmittelbar nach Erscheinen der Arbeit von Baum und Herrenheiser (Juli 1914) die Frage, ob das Salvarsan imstande ist, Rotlaufinfektionen bei weißen Mäusen zur Heilung zu bringen, erneut zu prüfen. Infolge des Kriegausbruches konnten die Versuche nicht ganz zu Ende geführt, ihre Ergebnisse aus diesem Grunde auch erst jetzt zusammengestellt werden. Inzwischen ist die Frage der Wirkungsweise dieser inneren Desinfektionsmittel in mehreren unter Leitung von Neufeld angefertigten Arbeiten von Schiemann und Ishiwara (4), sowie Schiemann (5) ausführlich geprüft worden, die wertvolle Aufschlüsse über den Mechanismus dieser Desinfektionswirkung liefern und in

Uebereinstimmung mit meinen nachstehend mitgeteilten Ergebnissen die Befunde von Baum und Herrenheiser völlig widerlegen.

Meine Versuche sind mit 3 verschiedenen Rotlaufstämmen ausgeführt worden: 1) mit dem auch von Neufeld, sowie von Spät benutzten Stamm Bierbaum; 2) mit einem im Institut gehaltenen Rotlaufstamm Cöln 1; 3) mit dem Rotlaufstamm Schreiber, der aus einer von Herrn Dr. Schreiber liebenswürdigerweise überlassenen Versandkultur des Serum-institutes in Landsberg a. W. herausgezüchtet war. Der von Spät benutzte, von Neufeld Stamm Spät benannte Rotlaufstamm konnte von Herrn Dr. Spät nicht übersandt werden, da er inzwischen eingegangen war.

Um dem Einwand Späts, es habe sich in den Versuchen von Neufeld und von mir um Stämme mit minimaler Virulenz gehandelt, zu begegnen, wurde zunächst eine Virulenzbestimmung vorgenommen.

Virulenzbestimmung 24-stündiger Bouillonkulturen bei intraperitonealer Infektion von weißen Mäusen. Injizierte Menge 0,3 ccm Volumen.

Menge	Stamm Bierbaum	Stamm Cöln 1	Stamm Schreiber
1) 1:500	† 3	† 3	† 3 ¹ / ₂
2) 1:1000	† 3 ³ / ₄	† 4 ¹ / ₂	† 3
3) 1:5000	† 3 ³ / ₄	† 4 ¹ / ₂	† 3
4) 1:10 000	† 3 ³ / ₄	überlebt	† 3
5) 1:50 000	† 4	† 6	überlebt
6) 1:100 000	† 5	† 5	† 9
7) 1:500 000	überlebt	† 5	† 5
8) 1:1 000 000	† 5	überlebt	† 4

Die 3 Stämme waren somit vollvirulent. Als Infektionsdosis bei den Heilversuchen wurde durchweg 0,01 ccm — 0,3¹/₈₀ einer 24-stündigen Bouillonkultur benutzt, also ein Vielfaches der Dosis letalis minima. Zur Behandlung diente sowohl Salvarsan wie Neosalvarsan. Die intravenöse Behandlung erfolgte 20—30 Minuten nach der intraperitonealen Infektion und wurde in einigen Versuchen mehrere Tage hintereinander wiederholt. Die Dosen betrugen für Salvarsan 1 ccm der Verdünnung 1:300 bis 1:350 pro 20 g Maus, für Neosalvarsan 1:200 bis 1:300.

Rotlaufkultur Stamm	Behandelt mit	Anzahl der Tiere	† an der Infektion		Nicht der Infektion erlegen	
			mit den Kontrollen	verzögert	† an Vergiftung	überlebend
0,01 Cöln 1	Salvarsan 1:300 1mal	4	—	3	1	—
dgl.	Salvarsan 1:300 bis 350 mehrmals	4	—	—	2	2
„	Neosalvarsan 1:300 1mal	4	—	1	—	3
„	Neosalvarsan 1:200 bis 300 mehrmals	4	—	1	—	3
2 Kontrollmäuse beide † nach 2 ³ / ₄ Tagen.						
0,01 Bierbaum	Salvarsan 1:300 1mal	4	—	—	—	4
dgl.	Salvarsan 1:300 bis 350 mehrmals	4	—	—	2	2
„	Neosalvarsan 1:300 1mal	4	—	1	—	3
„	Neosalvarsan 1:200 bis 300	4	—	1	—	3
2 Kontrollmäuse † nach 1 ³ / ₄ bzw. 2 ³ / ₄ Tagen.						

Die Tabelle zeigt, daß beide Rotlaufstämme durch Salvarsan und Neosalvarsan sehr gut beeinflußt werden. Von 32 behandelten Mäusen starben 7 verzögert an Rotlauf = 22 Proz., 5 an Vergiftung = 16 Proz., 20 überlebten = 62 Proz.

Eine Steigerung der Behandlungsdosis des Neosalvarsans auf 1:200 steigerte auch die Zahl der Todesfälle an Vergiftung, wie nachstehende Tabelle zeigt.

Rotlaufkultur Stamm	Behandelt mit	Anzahl der Tiere	† an der Infektion		Nicht der Infektion erlegen	
			mit den Kontrollen	verzögert	† an Vergiftung	überlebend
0,01 Cöln 1	Neosalvarsan 1:200 1mal	10	—	2	4	4
2 Kontrollmäuse beide † nach 3 Tagen.						
0,01 Bierbaum	Neosalvarsan 1:200 1mal	10	—	2	5	3
2 Kontrollmäuse † nach 2 ¹ / ₄ bzw. 3 Tagen.						

Es starben verzögert an Rotlauf 4 Tiere = 20 Proz., an Vergiftung 9 Tiere = 45 Proz., es überlebten 7 = 35 Proz. Der Prozentsatz an Rotlaftodesfällen ist also der gleiche geblieben.

Ein weiterer Versuch unter Verwendung der Rotlaufkultur Schreiber hatte nachstehendes Ergebnis:

Rotlaufkultur Stamm	Behandelt mit	Anzahl der Tiere	† an der Infektion		Nicht der Infektion erlegen	
			mit den Kontrollen	verzögert	† an Vergiftung	überlebend
0,01 Schreiber	Neosalvarsan 1:300 1mal	6	—	—	1	5
dgl.	Neosalvarsan 1:300 mehrfach (5mal)	6	—	—	—	6

2 Kontrollmäuse † nach 2 $\frac{1}{4}$ Tagen.

Von 12 behandelten Mäusen überlebten somit 11 = 92 Proz., 1 = 8 Proz. starb an Vergiftung, keine an Rotlauf.

In einer brieflichen Mitteilung hatte mir Spät empfohlen, „den Stamm Schreiber einige Tierpassagen durchmachen zu lassen, um die gewünschte Virulenz zu erreichen. Hierdurch könne man jeden Rotlaufstamm ad maximum in seiner Virulenz steigern“. Obwohl die Frage, ob solche einseitig durch Passagen in ihrer Virulenz gesteigerten Bacillen als natürlich virulente Stämme anzusehen und für die Entscheidung der vorliegenden Frage geeignet sind, mir sehr diskutierbar erscheint, habe ich doch den Stamm Schreiber hintereinander 5mal durch die Maus passieren lassen. Die hierauf vorgenommene Virulenzprüfung zeigt nun zunächst, daß die Virulenz des Stammes Schreiber nicht zu-, sondern abgenommen hatte. Es starben nunmehr nur noch die mit $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{1000}$ ccm infizierten Mäuse, während die darunter liegenden Dosen sämtlich überlebten.

Ein mit diesem Passagestamm angestellter Heilversuch hatte folgendes Ergebnis:

Rotlaufkultur	Behandelt mit	Anzahl der Tiere	† an der Infektion		Nicht der Infektion erlegen	
			mit den Kontrollen	verzögert	† an Vergiftung	überlebend
0,01 Schreiber	Neosalvarsan 1:200 1mal	6	—	1	3	2
Passagestamm	Neosalvarsan 1:300 1mal	6	—	—	1	5
dgl.	Neosalvarsan 1:300 5mal	6	—	—	—	6

2 Kontrollmäuse † nach 3 Tagen.

Von 18 behandelten Mäusen starben somit verzögert an Rotlauf 1 = 6 Proz., an Vergiftung 4 = 22 Proz., überlebten 13 = 72 Proz.

Hieraus ergibt sich, daß die Angabe von Spät, jeder Rotlaufstamm lasse sich durch mehrfache Passagen in seiner Virulenz ad maximum steigern, wohl nicht durchweg Gültigkeit besitzt, daß ferner auch dieser Passagestamm durch Neosalvarsan ausgezeichnet beeinflußt wurde.

Die vorliegenden Versuche haben somit meine früheren Ergebnisse völlig bestätigt. Sie dürften eine erwünschte Ergänzung der in vitro-Versuche von Schieman n (4, 5) bilden. Wenn Schieman n dabei gefunden hat, daß das Salvarsan auf Rotlaufbacillen in vitro stärker entwicklungshemmend als bakterizid wirkt, so besitzt diese Tatsache offenbar für den Heileffekt in vivo keine Bedeutung. Auch meine Versuche bestätigen somit die Richtigkeit des Ausspruches von Robert Koch (6): „Es ist nicht nötig, wie irrigerweise angenommen wird, daß die Bakterien im Körper getötet werden müssen; sondern es genügt, ihr Wachstum, ihre Vermehrung zu verhindern, um sie für den Körper unschädlich zu machen.“

Zusammenfassung.

Es wird erneut bestätigt, daß Salvarsan und Neosalvarsan eine ausgesprochene spezifische Heilwirkung auf Rotlaufinfektionen bei weißen Mäusen ausüben. Diese Heilwirkung erstreckt sich keineswegs, wie Baum und Herrenheiser behaupten, nur auf avirulente oder wenig infektiöse, sondern auch auf vollvirulente Rotlaufstämme.

Literaturverzeichnis.

- 1) Bierbaum, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 43.
- 2) Neufeld und Schieman n, Centralbl. f. Bakt., Bd. 57, Beiheft, p. 183.
- 3) Baum und Herrenheiser, Wien. klin. Wochenschr., 1914, p. 843.
- 4) Schieman n und Ishiwara, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 77, 1914.
- 5) Schieman n, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24.
- 6) Koch, R., Ges. Werke, Bd. 1, p. 659.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institute der Deutschen Universität Prag.]

Untersuchungen über Vibrionenvergiftung.Von Oberstabsarzt Professor Dr. **Oskar Bail.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. Dezember 1916.)

In einer Reihe von bereits mitgeteilten Versuchen wurde über das Bestreben, einer antitoxischen Cholerabehandlung näher zu kommen, berichtet. Zu diesen Versuchen diente zunächst ein wenig, dann ein stark giftbildender Vibrionenstamm. Zunächst gelang es, die Frage aufzuklären, warum ein gewöhnliches bakterizides Immunserum nicht gegen die giftige Cholerasubstanz zu schützen vermag. Im Tierkörper wird nämlich aus der Verbindung von Cholerasubstanz mit dem Immunkörper des Serums nicht nur dieser letztere wieder frei, eine Entdeckung, die bereits auf die Arbeiten von Pfeiffer und Friedberger zurückgeht, sondern auch die Cholerasubstanz verbleibt anscheinend unverändert, jedenfalls reaktionsfähig, im Tiere zurück, das in ihr gelegene Gift bleibt also auch wirkungsfähig.

Von dem Vibrionenstamme Kadikjöji, der sich in seinen Eigenschaften den El Tor-Vibrionen anschließt, gelang es weiter leicht, Gifte von großer Wirksamkeit für Meerschweinchen durch Ausziehen von Vibrionen in Wasser unter bestimmten Bedingungen herzustellen. Mittels derselben konnte einerseits die namentlich von Pettersson zuerst aufgefundene Giftzerstörung durch Leukocyten studiert, andererseits aber auch durch Vorbehandlung von Meerschweinchen und eines Schafes Serum gewonnen werden, welches, streng nach dem Gesetze des Vielfachen und schon in sehr geringer Menge, die Wirkung des Giftes im Tierkörper, wie außerhalb desselben (studiert an der Hämolyse) aufhob. Die eigenen Versuche reihen sich in dieser Hinsicht zahlreichen älteren von Metschnikoff, Roux, Taurelli-Salimbeni, Macfadyan, Hahn, Besredka, Kraus u. a. an, denen die Herstellung von Antitoxin bei verschiedenen Halbparasiten gelungen war.

Allerdings war der Ausgangspunkt für die Gewinnung der als Toxin bezeichneten Lösungen verschieden; das eine Mal handelte es sich um Filtrate aus Flüssigkeitszuchten, welche rein äußerlich den Charakter abgeschiedener Toxine tragen, dann wieder um Auszüge aus Bakterienleibern, welche man bis vor kurzem als Endotoxine, als Lösungen des in den Bakterienleibern enthaltenen Giftes ansah. In den eigenen Versuchen wurden nur diese letzteren verwendet. Da aber die in bezug auf Immunisierung und die Eigenschaften der gewonnenen Immunseren erhaltenen Ergebnisse im ganzen mit denen übereinstimmen, welche von seiten anderer Forscher (Brau und Denier, Salimbeni, R. Kraus) für Kulturgifte erhalten wurden, so schien eine gewisse Uebereinstimmung hergestellt: das in den Leibern der Bakterien enthaltene und aus ihnen ausgezogene Endotoxin hat im ganzen dieselben Eigenschaften, wie das in flüssigen Zuchten freiwillig abgesonderte Toxin; ähnlich wie bei Diphtheriebacillen giebt es verschiedene Stämme, von denen einige leicht und stark, andere nur wenig Gift bilden. Zum Studium geeignet sind nur die letzteren, und bei ihnen läßt sich zeigen, daß zwischen Toxin- und Endotoxinimmunität kein durchgreifender Unterschied besteht.

Es wurde aber bereits darauf hingewiesen, daß nach den Arbeiten namentlich R. Pfeiffers und seiner Schule eine derartige Schlußfolgerung nicht mehr angängig sei. Danach müssen bei Untersuchung der Giftstoffe von Halbparasiten (die El Tor-Vibrionen boten dafür das erste Beispiel) nebeneinander zwei Gifte in Betracht gezogen werden: ein wirkliches, echtes Toxin, das bei gewissen Stämmen besonders reichlich zur Entwicklung kommt und zur Ausbildung echter, insbesondere dem Gesetze des Vielfachen gehorchender Antitoxine Veranlassung giebt, und das Endotoxin, das wahre Leibesgift, gegen welches ein Antitoxin herzustellen bisher nicht gelungen ist. Die Möglichkeit, daß ein solches gefunden werden könnte, leugnet Pfeiffer dabei keineswegs; die bisher aber als anti-endotoxisch bezeichneten Seren, von denen er einige genauer untersuchen konnte, verdienen diesen Namen nicht. Der Hauptbeweis dafür liegt darin, daß die Seren zwar gegen giftige Lösungen, welche auf diese oder jene Weise aus Bak-

terien gewonnen wurden, schützen konnten, nicht aber gegen lebende oder vorsichtig abgetötete Bakterien selbst.

Mit der Forderung Pfeiffers nach dieser Leistung, deren Berechtigung unter allen Umständen anzuerkennen ist, wird sich jede künftige Untersuchung des Gegenstandes abzufinden haben; ihre Anerkennung hat zur nächsten Folge, daß das Suchen nach besonders giftigen Stämmen und das Arbeiten mit solchen nicht zu einer Klärung der Frage führen kann. Denn auch das beste antitoxische Choleraserum beseitigt bestenfalls nur einen Teil des Giftes; das eigentliche Leibesgift bleibt unbeeinflusst, und dieses ist in wenig giftigen Stämmen ebensogut wie in den seltenen, giftbildenden faßbar.

Das bereits beschriebene Serum gegen den Vibrionenstamm Kadikjöji entspricht nun allerdings der Pfeifferschen Forderung, aber nur in sehr unvollkommener Weise, indem zwar die einfach tödliche, nicht zur Vermehrung gelangende Vibrionenmenge unschädlich gemacht wurde, gegen eine verhältnismäßig geringe Vermehrung derselben aber selbst durch große Serummenngen kein sicherer Schutz mehr zu erzielen war; überdies blieben auch bei geringer Vergiftung schwere, oft sehr bedrohliche Krankheitserscheinungen bei den schließlich überlebenden Tieren nicht aus. Dazu kam der weitere auffallende Umstand, daß das antitoxische Serum zu den Bakterienleibern, aus denen es dargestellt war, gar keine engeren Beziehungen zu haben schien; es wurde zwar durch vorhergehende Behandlung mit Gift erschöpft, schien aber durch Behandlung mit Bakterien in den damals angewendeten Mengen gar nicht beeinflußt zu werden.

Unter solchen Umständen war es, ehe weitere Fortschritte erwartet werden konnten, notwendig, zunächst eine genauere Analyse der Giftlösungen, als welche stets nur die in der früher beschriebenen Weise gewonnenen wässerigen Vibrionenauszüge benutzt wurden, vorzunehmen, hauptsächlich um festzustellen, in welcher Weise sie mit der Substanz der Vibrionenleiber im Zusammenhange stehen. Das Verhalten zum Antitoxin bot dazu, außer der Untersuchung der durch äußere Eingriffe (besonders Hitze) gesetzten Veränderungen, ein willkommenes Hilfsmittel. Es sei, ohne hier näher darauf ein-

zugehen, bemerkt, daß bereits Salimbeni für das von ihm hergestellte Gift eine Analyse versucht hatte.

Zunächst handelte es sich um Untersuchung der Zerstörung des Antitoxins durch Gift und durch Bakterienleiber. Dabei wurde gleichzeitig eine nicht uninteressante Beeinflussung der Giftgewinnung aus Bakterien durch Serum aufgefunden und die für alles Spätere wichtige Frage der sogenannten primären und sekundären Cholerasubstanz für den *Vibrio Kadikjöji* entschieden.

Bekanntlich hatte Pfeiffer schon sehr frühzeitig ermittelt, daß das Gift der Vibrionenleiber durch Hitze verändert wird, indem die dann gebildete „sekundäre Cholerasubstanz“ sehr viel weniger giftig ist, als die in den lebenden oder vorsichtig abgetöteten Vibrionen. Bürgers hat dem widersprochen und in seinen Versuchen die Giftigkeit von Choleravibrionen, selbst nach viel höherer Wärmeeinwirkung als 60°, ziemlich unverändert bestehen bleiben sehen. Für den *Vibrio Kadikjöji* besteht aber ohne Zweifel die Pfeiffersche Feststellung zu Recht.

2 Schrägagarkulturen von *Vibrio Kadikjöji* wurden in 8 ccm NaCl-Lösung verteilt und die Aufschwemmung je $\frac{1}{5}$ Stunde bei Zimmertemperatur, bei 60 und 100° gehalten. Die Einspritzung der $\frac{1}{5}$ Kultur entsprechenden Mengen erfolgte nach Zusatz von je 0,002 ccm Wiener bakteriziden Immunserums.

Meerschw. 676 mit nicht erhitzter Kultur zeigte in zweistündiger Temperaturmessung: 33,3, 32,9, 29,2, 27,8° und starb nach etwa 7 Stunden mit sehr zellarmem, keimfreiem Exsudate.

Meerschw. 677, Kultur auf 60° erwärmt: 38,5, 38,4, 37,5, 37,8, 39,1, 39,6°, blieb dauernd munter.

Meerschw. 678 mit auf 100° erhitzter Kultur: 36,3, 38,4, 37,6, 38,5, 39,1, 39,6°, blieb ohne Krankheit.

Nicht nur am Ausgange, sondern auch durch Beobachtung der Wärmemessung der Tiere ist die vollständige Zerstörung der in $\frac{1}{5}$ Kultur enthaltenen Giftmenge zu erkennen. Der folgende Versuch erweitert dieses Ergebnis.

5 Schrägagarkulturen wurden in 5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und die $\frac{1}{5}$, $\frac{2}{5}$, 1 und 2 Kulturen entsprechenden Mengen auf je 2 ccm Flüssigkeit gebracht. $\frac{1}{5}$ Kultur blieb unverändert, die anderen Proben wurden $\frac{1}{5}$ Stunde auf 60° erwärmt und sodann jede Probe mit 0,01 ccm Wiener Immunserum intraperitoneal eingespritzt.

Meerschw. 802 mit $\frac{1}{6}$ Kultur unerhitzt, bei zweistündiger Wärmemessung: 38,7, 38,2, 33,5, 33,0, 33,2, 34,5°, war schwerst krank und erholte sich wider Erwarten.

Meerschw. 803 mit $\frac{2}{6}$ Kultur erhitzt: 39,0, 38,0, 34,8, 35,0, 36,8, 36,4°, nur vorübergehend krank gewesen.

Meerschw. 804 mit 1 Kultur: 39,1, 37,6, 34,6, 34,0, 33,2°, starb nach 11 $\frac{1}{2}$ Stunden mit fast zellfreier, keimfreier Bauchhöhle.

Meerschw. 805 mit 2 Kulturen erhitzt: 39,2, 37,3, 33,6°, starb nach 5 Stunden mit zell- und keimfreier Bauchhöhle.

Der Widerspruch in den Befunden von Bürgers und den eigenen dürfte durch die verschiedene Giftigkeit der verwendeten Stämme ohne weiteres erklärbar sein. Die allermeisten vom Menschen gezüchteten Cholerastämme haben offenbar nur einen sehr geringen Grad von Giftigkeit, was sich sowohl in der verhältnismäßig schwachen Giftwirkung der Vibrionenleiber selbst, als in der Schwierigkeit oder nahezu Unmöglichkeit, aus ihnen wirksame Auszüge zu erhalten, erkennen läßt. Die von wenigen Stämmen gebildeten echten Gifte sind hitzeempfindlich und werden bei 60° sehr abgeschwächt, so daß sie dann in einer Kulturaufschwemmung nicht mehr nachweisbar sind. Erhöhung der Kulturmasse auf das Fünffache ergibt noch tödliche Wirkung, und selbst bei Erhöhung der diesmal ganz knapp an der Grenze der Tödlichkeit liegenden Menge von $\frac{1}{6}$ Kultur auf das Doppelte läßt sich noch an der Wärmemessung eine Beeinflussung des Versuchstieres ganz deutlich erkennen.

Ist so auf diese Weise für den *Vibrio Kadikjöji* die Giftigkeitsverminderung durch Erhitzen sicher erkannt, so ist damit nicht entschieden, daß es sich um eine Veränderung eines ursprünglichen, einheitlichen Giftes in ein minder wirksames handelt, also um eine Umwandlung „primärer“ Cholera-substanz in eine „sekundäre“. Es könnte sich ebensogut um Zerstörung des echten Toxins, welches von der Zucht her der Bakterienaufschwemmung anhaftete, handeln, also um Beseitigung des „Lösungsgiftes“, während das in den Vibrionenleibern eingeschlossene „Leibesgift“ als hitzebeständig einfach zurückbleibt. Trifft dies zu, so wäre in der Tat bei einem gar kein Lösungsgift bildenden Stamme die Giftigkeit lebender und erhitzter Bacillen stets ungefähr die gleiche.

Die Gewinnung des Lösungsgiftes erfolgte in der früher beschriebenen Weise; junge Agarkulturen auf Kolleschalen wurden in 5—6 ccm destilliertem Wasser für eine Schale aufgeschwemmt und mehrere Stunden im Wasserbade bei einer höchstens 45° betragenden Temperatur gehalten. Dabei setzt sich¹⁾ der weitaus größte Teil der Bakterien bereits ab, und das Zentrifugieren zu einer mehr oder minder gelb gefärbten, klaren Flüssigkeit macht keine Schwierigkeiten. Das so bereitete Gift hält sich im Eisschranke mit oder ohne Zusatz von wenig Toluol mehrere Wochen so gut wie unverändert und tötet im allgemeinen mit 0,1 bis 0,2 ccm Meerschweinchen von 200 g bei intraperitonealer Einspritzung.

Es wurde nun untersucht, welchen Einfluß der Zusatz von antitoxischem Schafserum auf dieses Ausziehen des Giftes hat²⁾.

Die üppige Zucht auf einer Kolleschale wurde in 7 ccm destilliertem Wasser aufgenommen und in zwei gleiche Teile geteilt; zu Teil a kam 1,5 ccm antitoxischen Schafserums III, zu b ebensoviel von Normalschafserum. Nach 8-stündigem Aufenthalte bei 42° wurde zentrifugiert, die klare Flüssigkeit über Nacht kalt aufbewahrt und am nächsten Morgen der Giftwert bestimmt.

Meerschw. 679 erhielt 0,15 ccm Gift a mit 0,002 ccm Wiener Immunsersums ip. Wärmemessung: 38,8, 38,4, 38,4, 39,5, 39,5°, dauernd munter.

Meerschw. 680 erhielt wie das vorige 0,45 ccm Gift a: 38,4, 37,8, 37,0, 37,0, 37,5, 38,4°, dauernd munter.

Meerschw. 681 erhielt wie die früheren 0,15 ccm Gift b: 38,5, 39,4, 38,4, 37,3, 39,0, 39,5, dauernd munter.

Meerschw. 682 wie die vorigen 0,45 ccm Gift b: 37,5, 37,0, 38,6, 38,2, 39,4, 39,4, dauernd munter.

Ein ganz in der gleichen Weise gleichzeitig aus anderen Kolleschalen bloß mit destilliertem Wasser hergestelltes Gift XXVI tötete Meerschweinchen mit 0,15 und 0,3 ccm innerhalb weniger Stunden.

1) Das Absetzen erfolgt auffallend rasch, und in 2 Stunden kann der größere Teil der Flüssigkeit nahezu klar sein. Es ist unbedingt abhängig von der Dichte der Aufschwemmung, erfolgt z. B. bei einer Kolleschale auf 6 ccm, nicht mehr aber, wenn die Aufschwemmung auf die Menge von 15 ccm verdünnt wird.

2) Ein wirklich reiner Giftauszug liegt natürlich bei dieser Zubereitung nicht vor, da demselben Gift, welches im Schwitzwasser des Agars u. dgl. sich bildet, beigemischt ist. Wie später zu zeigen sein wird, läßt sich tatsächlich ein Unterschied in der Giftwirkung einfach einer Agarzucht entnommener und der gleichen, aber vorher gewaschenen Vibrionen nachweisen (Waschwassergift).

Es hatte also der Zusatz von antitoxischem Immunserum die Entstehung eines in gewöhnlicher Weise wirksamen Giftauszuges verhindert, aber das zur Kontrolle verwendete Normalschafserum hatte genau im gleichen Sinne gewirkt. Dabei ergab eine angeschlossene Untersuchung, daß der verwendete Giftauszug a, bei dessen Herstellung die große Menge der Bakterien einer halben Kollischen Schale (etwa 5 bis 6 Schrägagarzuchten entsprechend) auf 1,5 ccm des antitoxischen Serums eingewirkt hatte, dessen giftwidrige Wirkung anscheinend unverändert gelassen hatte.

Er enthielt in der Gesamtflüssigkeit von 5 ccm 1,5 ccm Immunserum; es wurde nun eine gleiche Verdünnung von Immunserum mit Kochsalzlösung hergestellt und von beiden die je 0,15 und 0,3 ccm Immunserum entsprechenden Mengen mit je 0,3 ccm Gift XXVI den Meerschweinchen 685 bis 688 in die Bauchhöhle eingespritzt: die Tiere blieben ohne Temperatursturz munter, nur 688 mit 0,3 ccm Gift und der größeren Menge des Kontrollserums zeigte nach 7 Stunden 34,9°, erholte sich wieder, um nach etwa 1 Woche marastisch einzugehen; ein Kontrolltier mit 0,3 ccm Gift allein erlag nach 7 Stunden.

Wiederholung hatte das gleiche Ergebnis.

Drei 19 Stunden alte Kollische Schalen wurden mit 5 1/2 ccm Wasser abgespült und die vereinten Aufschwemmungen auf 24 ccm gebracht; zu je 6 ccm davon wurden zugesetzt: a) 2 ccm NaCl-Lösung, b) 2 ccm Serum III, c) 2 ccm Normalschafserum, d) 2 ccm Normalmeerschweinchen-serum. Nach 8-stündigem Stehen bei 41 1/2—43° wurde zentrifugiert, die Proben ohne Abgießen über Nacht kalt stehen gelassen, am nächsten Tage nochmals zentrifugiert und die vollständig klaren Abgüsse verwendet. Die Einspritzung erfolgte stets mit 0,002 ccm bakteriziden Immunserums.

Meerschw. 697 erhielt 0,15 ccm von a: 34,3, 35,1, 34,5, 31,6, 32,2, 31,8°, starb in der Nacht, mäßiger Zellgehalt, steril.

Meerschw. 698 erhielt 0,3 ccm von a: 36,6, 35,7, 33,3, 32,2°, starb nach etwa 9 Stunden, zellfrei, steril.

Meerschw. 699 erhielt 0,3 ccm von b: 37,4, 40,0, 39,0, 38,8, 39,2, 39,2°, blieb munter.

Meerschw. 700 erhielt 0,3 ccm von c: 38,0, 39,3, 36,9, 36,5, 38,2, 39,2°, blieb munter.

Meerschw. 701 erhielt 0,3 ccm von d: 38,2, 40,0, 38,8, 38,8, 38,8, 39,5°, blieb munter.

Dabei ist der Vibrionenauszug b in hohem Grade antitoxisch geblieben, denn:

Meerschw. 702 erhielt davon 0,15 ccm mit 0,25 ccm Gift XXVI: 36,5, 39,8, 39,0, 39,0, 39,5, 39,1°, blieb munter.

Meerschw. 703 erhielt 0,3 ccm davon mit 0,25 ccm Gift XXVI: 37,6, 40,0, 37,6, 37,5, 37,6, 37,8°, blieb munter.

Meerschw. 704 erhielt zur Kontrolle 0,3 ccm Auszug mit 0,25 ccm Gift XXVI: 35,5, 35,1, 32,0, 30,5, 29,1°, starb nach etwa 10 Stunden, zellfrei, steril.

Außer dem antitoxischen hatte auch normales Schafserum und ebenso normales Meerschweinchenserum den Giftaustritt aus großen Vibrionenmengen, der bei Zusatz der entsprechenden Menge von Kochsalzlösung in der gewöhnlichen Weise eingetreten war, verhindert. Um eine während des Ausziehens erfolgende Giftbeseitigung kann es sich nicht handeln, da einerseits Normalserum nicht antitoxisch wirkt, andererseits das zugesetzte Antitoxin anscheinend gar nicht angegriffen wird. Nach diesem Ergebnisse müßte man eigentlich erwarten, daß im Tierkörper, wo nur dem Serum vergleichbare Flüssigkeiten mit den Vibrionen in Berührung kommen, das Freiwerden von Gift behindert werden und antitoxisches Serum gegen geformte Vibrionen ganz besonders gut schützen müßte. In beider Hinsicht ist aber das Gegenteil der Fall.

Von Wichtigkeit erscheint weiter der Befund, daß Immunsérum, mit so ungeheuren Bakterienmengen, wie eine Kolléische Schale sie liefert, behandelt, anscheinend unverändert wirksam bleibt, was darauf hindeutet, daß eine Antitoxinbindung durch Stoffe in den Bakterienleibern gar nicht stattfindet. Das erinnert vollständig an das Verhalten echter Toxinbildner unter den Bakterien und würde folgerichtig ergeben, daß das Gift, gegen welches das Antitoxin sich richtet, in den Bakterienleibern überhaupt nicht vorhanden ist. Eigens angestellte Versuche ergaben hierfür scheinbar weitere Bestätigung.

Immunsérum wird einerseits mit Giftauszug, andererseits mit lebenden Vibrionen in folgender Weise behandelt:

- 1) 0,3 ccm Gift XXVI + 0,7 ccm NaCl-Lösung + 0,15 ccm Serum III, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert;
- 2) die gleiche Mischung;
- 3) 1 Kultur lebender Vibrionen in 1 ccm NaCl-Lösung + 0,15 ccm Serum III, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert;
- 4) die gleiche Mischung.

Kontrolle 1: 0,3 ccm Gift XXVI + 0,85 ccm NaCl-Lösung, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°;

Kontrolle 2: 1 ccm NaCl-Lösung + 0,15 ccm Serum III, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°;

Kontrolle 3: 1,15 ccm NaCl-Lösung.

Nach dem Zentrifugieren wird zu den Proben 1, 3, Kontrolle 1 und Kontrolle 3 je 0,15, zu den Proben 2, 4 und Kontrolle 2 je 0,3 ccm Gift XXVI zugesetzt und die Mischungen sofort mit je 0,002 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.

Von den Versuchstieren starb No. 694 mit Kontrolle 1 nach 6 Stunden. No. 696 mit Kontrolle 3 (also 0,15 ccm Gift allein) wurde unter Temperatursturz anscheinend hoffnungslos krank, lebte aber noch 3 Tage, die übrigen zeigten weder Temperatursturz noch Krankheit bis auf die Tiere 690 und 691 mit den Proben 1 und 2, welche schwer krank wurden und von denen 690 mit Probe 1 nach 2 Tagen starb.

Es hatte somit tatsächlich die Behandlung von 0,15 ccm Serum mit der Vibrionenmasse einer ganzen Schrägagarzucht die antitoxische Serumwirkung gar nicht beeinflussen können, wozu die Menge von 0,3 ccm Gift deutlich imstande gewesen war.

Der Versuch leidet übrigens an zwei Fehlern; zunächst ist die Einwirkungsdauer von Gift und Serum aufeinander viel zu kurz; die antitoxische Wirkung tritt am schärfsten hervor, wenn Serum und Gift nach Mischung einige Zeit ($\frac{1}{2}$, oder auch etwa $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37° reicht vollständig aus) aufeinander einwirken können, eine Eigentümlichkeit, die ebenfalls von den rein antitoxischen Seren her bekannt ist; ferner aber ist die hier angewendete Menge von 0,15 ccm Serum viel zu hoch, weil unrichtig bestimmt. Denn während bei sofortiger Einspritzung nach Mischung von Gift und Gegengift 0,05 ccm Serum nicht immer und nicht vollständig (Wärmemessung!) schützten, konnte nach vorheriger Einwirkung aufeinander das gleiche Serum mit 0,025 und selbst mit 0,01 ccm gegen die gleiche Giftmenge vollkommenen Schutz verleihen. Daß bei sofortiger Einspritzung eben hergestellter Mischungen ohne ganz besondere Vorsichtsmaßregeln Unregelmäßigkeiten leicht auftreten können, wenn sich etwa eine von mehreren Einspritzungen um einige Minuten verzögert, während welcher Zeit Gift und Serum im Glase aufeinander einwirken, ist leicht einzusehen und erklärt sofort Unregelmäßigkeiten, die anfangs bei diesen Versuchen auftraten.

Immerhin sei aus diesen zum Teil als mißglückt zu bezeichnenden Versuchen einer hier angeführt.

Es werden folgende Mischungen hergestellt:

- 1) 0,4 ccm Gift XXVI + 0,025 ccm Serum III in 0,25 ccm NaCl, $\frac{1}{2}$ Stunde 37° , dann 1,15 ccm NaCl mit 0,2 ccm Gift XXVI zugesetzt

und sofort dem Meerschw. 724 eingespritzt: 37,0, 37,5, 35,2, 34,1, 32,0°, starb nach 9¼ Stunden, fast zellfrei, steril.

2) 0,6 ccm Gift XXVI + 0,025 ccm Serum III in 0,25 ccm NaCl, ½ Stunde 37°, dann unter Zusatz von 1,15 ccm NaCl sofort dem Meerschw. 725 eingespritzt: 36,6, 39,5, 39,1, 38,9, 38,9, 39,5°, dauernd munter geblieben.

3) 0,025 ccm Serum III in 0,25 ccm NaCl, ½ Stunde 37°, dann 1,15 ccm NaCl und 0,6 ccm Gift XXVI zugesetzt und sofort Meerschw. 726 eingespritzt: 37,3, 36,8, 36,8, 36,8, 35,5, 35,0°, wurde schwer krank, erholte sich allmählich.

Das Interesse an dem Versuche ergibt sich aus den zahlenmäßigen Verhältnissen: die überall gleiche Menge von 0,6 ccm Gift bei der ebenfalls gleichen Menge von 0,025 ccm Serum hatte bei den 3 Tieren ganz verschieden gewirkt; No. 725 war auch bei Beobachtung der Körperwärme dadurch nicht im geringsten beeinflusst worden, weil Gift und Gegengift vorher aufeinander genügend einwirken konnten. Bei No. 726, wo diese Einwirkung außerhalb des Tieres nicht stattgefunden hatte, war Temperatursenkung und schwere Krankheit die Folge, und No. 724, wo das Serum erst mit ⅔ des Giftes außerhalb des Tieres auf das Serum eingewirkt hatte, starb auf Zusatz des letzten Giftdrittels innerhalb kürzester Zeit. Die Gesamtgiftmenge von 0,6 ccm kann also bei Zusatz von 0,025 ccm Serum innerhalb ½ Stunde glatt beseitigt werden; sie wird es aber nicht, wenn das Gift in 2 Portionen nacheinander auf die gleiche Serummengung einwirkt, ein Befund, welcher an das von echten Toxinen her bekannte „Danzsphenomen“ erinnert und als dessen Umkehrung bezeichnet werden kann.

Als die oben erwähnte Fehlerquelle beseitigt war, stellte sich heraus, daß es doch gelingt, Antitoxin durch vorherige Behandlung mit Bakterienleibern seiner Schutzkraft für gelöstes Gift zu berauben.

Es wurden folgende Mischungen angesetzt:

2 Kulturen lebender Cholera Kadikjöji in 2 ccm NaCl-Lösung + 0,04 ccm antitoxisches Serum III; nach ½-stündigem Aufenthalte bei 37° wurde zentrifugiert, der Abguß ½ Stunde auf 60° erwärmt und dann nach Zusatz von 0,4 ccm Gift XXVII wieder ½ Stunde bei 37° gehalten und mit 0,002 ccm Wiener Immunserum dem Meerschw. No. 759 eingespritzt: 36,2, 31,9°, Tod nach 5 Stunden, zellfreie, sterile Bauchhöhle.

Genau wie die vorige Mischung angesetzt und behandelt, nur daß die Aufschwemmung von 2 Kulturen in 2 ccm NaCl vorher ½ Stunde auf

60° erhitzt worden war. Meerschw. 760: 37,3, 36,1, 36,7, 34,7, 34,7°, überlebt, war deutlich krank.

1 ccm Gift XXVII + 1 ccm NaCl + 0,04 ccm Serum III erst $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann $\frac{1}{2}$ Stunde 60°, zugesetzt 0,4 ccm Gift XXVII und mit 0,002 ccm Wiener Immunserum an Meerschw. 761: 35,1, 34,6°, Tod nach 6 Stunden, zellfrei, steril.

Genau wie die vorige Mischung, nur war das erstangewendete Gift $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° erhitzt; Meerschw. 762: 37,0, 39,1, 37,0, 37,0, 36,8°, überlebt.

2 ccm NaCl-Lösung + 0,04 ccm Serum III, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann $\frac{1}{2}$ Stunde 60°, zugesetzt 0,4 ccm Gift XXVII und mit 0,002 ccm Wiener Immunserum an Meerschw. 763: 38,8, 37,5, 36,2, 36,0, 36,0°, überlebt.

Das Kontrolltier mit 0,4 ccm Gift XXVII ohne Serum III, Meerschw. 764: 35,8, 34,3, 33,0, 31,5, 30,0°, Tod nach etwa 11 Stunden, wenige Zellen, steril.

Die Menge von 2 Agarkulturen lebender Vibrionen hatte somit doch, ebenso wie 1 ccm Giftlösung das antitoxische Serum unfähig gemacht, die nachträglich zugesetzte Menge von 0,4 ccm Gift zu beseitigen. Diese Mengen von Vibrionen und Gift wurden auf Grund folgenden Versuches und der sich daran anschließenden Erwägungen gewählt.

Es wurden folgende Mischungen hergestellt:

1 ccm Frischgift XXVII + 0,04 ccm Serum III, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann $\frac{1}{2}$ Stunde 60°, zugesetzt 0,4 ccm Frischgift XXVII und nach $\frac{1}{2}$ Stunde 37° mit 0,002 ccm Wiener Immunserum an Meerschw. 755: 33,8, 33,2, 33,5, 32,6°, Tod nach $8\frac{1}{2}$ Stunden, steril.

Wie vorige, aber statt Frischgift zur Bindung von Serum III Gift nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Erhitzung auf 60° verwendet; Meerschw. 756: 38,0, 40,5, 40,4, 39,5, 39,5, 39,8°, ohne Krankheit geblieben.

Kontrolltier 757: 0,4 ccm Gift mit unbehandelten 0,04 ccm Serum III, mit Wärmerückgang auf 35,2°, am Leben geblieben.

Kontrolltier 758 mit 0,4 ccm Gift XXVII ohne Serum, mit Wärmesturz auf 30,5°, nach $9\frac{1}{2}$ Stunden gestorben.

Es war somit zur Zerstörung von 0,04 ccm antitoxischen Serums 1 ccm Gift ausreichend. Das Gift aber war durch Ausziehen der Vibrionenmenge einer Kolleschale mit 6 ccm Wasser gewonnen. Da eine Kolleschale etwa 12 Schrägagarzuchten entspricht, so ergibt der 6. Teil davon, also 2 Kulturen, etwa 1 ccm Lösungsgift.

Und tatsächlich muß man diese große Vibrionenmenge anwenden, wie der folgende, am Tage nach dem Versuche mit den Tieren 759—764 angesetzte Versuch beweist.

0,04 ccm Serum III + $\frac{1}{2}$ Agarkultur in 2 ccm NaCl, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, Abguß $\frac{1}{2}$ Stunde 60° und sodann mit 0,4 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$ Stunde 37°; sodann mit 0,002 ccm Wiener Immunserum an Meersch. 765: 39,8, 39,2, 37,6, 37,5, 38,5°, ohne Krankheit.

Ebenso, aber zur Behandlung des Serums 1 ganze Agarkultur; Meersch. 766: 37,7, 39,8, 37,6, 37,8, 37,5°, ohne Krankheit.

Ebenso, aber zur Behandlung des Serums $\frac{1}{2}$ Agarkultur; Meersch. 767: 39,3, 38,2, 35,4, 36,0, 35,7°, war krank, erholt.

Kontrolltier 768 mit 0,4 ccm Gift und unbehandeltem Serum: 39,1, 39,6, 38,3, 38,9, 39,7°, ohne Krankheit.

Geringere Mengen als 2 Agarkulturen vermögen somit 0,04 ccm des antitoxischen Serums nicht zu zerstören, obwohl aus der Temperaturmessung von Meersch. 767 hervorgeht, daß $\frac{1}{2}$ Agarkulturen schon eine schwächende Wirkung ausüben. Da nun 2 Agarkulturen gerade 1 ccm Gift entsprechen, so ist damit erwiesen, daß die Vibrionenleiber nur nach Maßgabe des in ihnen ungefähr enthaltenen und aus ihnen ausziehbaren Giftes auf das Serum einwirken. Schon aus diesem Grunde kann eine bestimmte Beziehung von Bakterienleibern zu dem gewonnenen antitoxischen Serum nicht erschlossen werden. Dazu kommt noch das Mißverhältnis zwischen Bindungskraft und Giftigkeit der Leiber. Erst 2 Kulturen von solchen vermögen eine verhältnismäßig geringe Menge Serum für Gift unschädlich zu machen, während schon etwa $\frac{1}{2}$ Kultur tödlich wirkt und nur schwer durch das Serum zu beeinflussen ist.

Auf die in den obigen Versuchen hervortretende Besonderheit erhitzten Giftes und erhitzter Bakterien wird später im Zusammenhange einzugehen sein.

Ueber die Gesetzmäßigkeit in der Wirkung von Gift auf Gegengift gibt der folgende Versuch Aufschluß, bei dem die gegen die doppelt tödliche Giftmenge (0,4 ccm) schützende Serummenge (0,025 ccm) mit 0,4 ccm und dem Mehrfachen von Gift behandelt und hierauf neuerlich 0,4 ccm Gift zugesetzt wurden. Die Mischungen wurden nach entsprechender Einwirkung aufeinander genau gleichgroßen Tieren eingespritzt.

- 1) 0,025 ccm Serum + 0,4 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$ Stunde 37° + 0,4 ccm Gift + 1,2 ccm NaCl-Lösung.
- 2) 0,025 ccm Serum + 0,4 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$ Stunde 37° + 1,6 ccm NaCl-Lösung.

- 3) 0,025 ccm Serum + 0,8 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 37° + 1,2 ccm NaCl-Lösung.
- 4) 0,05 ccm Serum III + 0,4 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 37° + 0,4 ccm Gift + 1,2 ccm NaCl-Lösung.
- 5) 0,05 ccm Serum III + 0,8 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 37° + 0,4 ccm Gift + 0,8 ccm NaCl-Lösung.
- 6) 0,05 ccm Serum III + 0,8 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 37° + 1,2 ccm NaCl-Lösung.
- 7) 0,05 ccm Serum III + 1,2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 37° + 0,8 ccm NaCl-Lösung.
- 8) 0,075 ccm Serum III + 0,8 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 37° + 0,4 ccm Gift + 0,8 ccm NaCl-Lösung.
- 9) 0,075 ccm Serum III + 1,2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 37° + 0,4 ccm Gift + 0,4 ccm NaCl-Lösung.
- 10) 0,075 ccm Serum III + 1,2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 37° + 0,8 ccm NaCl-Lösung.
- 11) 0,075 ccm Serum III + 1,6 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 37° + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Auch nach dem zweiten Giftzusatze bleiben die Proben $\frac{1}{2}$, Stunde bei 37° stehen, ehe sie mit je 0,002 ccm Wiener Immunserum eingespritzt werden.

Meerschw.	780	mit	Probe 1:	36,8, 34,5, 31,6°, Tod nach 8 Stunden.
"	781	"	"	2: 38,5, 38,8, 36,5, 36,5, 37,5, 37,5°, überlebt.
"	782	"	"	3: 34,0, 33,8, 33,8, 31,9, 31,6, 31,2°, Tod nach 12 bis 18 Stunden.
"	783	"	"	4: 37,5, 36,2, 34,1°, Tod nach 6 $\frac{1}{2}$ Stunden.
"	784	"	"	5: 37,0, 31,0, 30,8°, Tod nach 7 $\frac{1}{2}$ Stunden.
"	785	"	"	6: 37,7, 38,7, 36,0, 35,6, 36,0, 36,5°, überlebt.
"	786	"	"	7: 37,1, 35,9, 35,4, 33,4 32,5°, Tod nach 10 Stunden.
"	787	"	"	8: 37,3, 38,2, 35,8, 33,6, 29,8°, Tod nach 10 Stunden.
"	788	"	"	9: 33,6, 33,1, 29,8°, Tod nach 6 Stunden.
"	789	"	"	10: 37,1, 38,2, 36,1, 36,0, 36,8, 36,0°, überlebt.
"	790	"	"	11: 36,8, 36,8, 35,5°, Tod nach 5 Stunden.

Der Versuch beweist mit einer geradezu überraschenden Regelmäßigkeit zunächst die Geltung des Vielfachengesetzes: 0,025 ccm Serum schützt gegen 0,4, nicht gegen 0,8 ccm Gift, 0,05 ccm wohl gegen 0,8, nicht gegen 1,2, und 0,075 ccm noch gegen 1,2, nicht gegen 1,6 ccm Gift. Somit entspricht jeder Erhöhung der Giftmenge um 0,4 ccm eine solche des antitoxischen Serums um 0,025 ccm. Es ist aber dabei nicht gleichgültig, ob das Gift auf einmal oder in wiederholten kleinen Gaben zugesetzt wird; in letzterem Falle ist die Schutzwirkung nicht mehr zu erzielen. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß die Lösung des Choleragiftes ein echtes Toxin enthält, mit der Fähigkeit der Ausbildung echter Antitoxine.

Auf unüberwindliche Schwierigkeiten stießen Versuche über die Beeinflussung des Antitoxins durch erhitztes Gift.

Ein Vorversuch mit Gift XXVI bestätigte zunächst die von den meisten bisherigen Untersuchern erhobene Abschwächung des Giftes bei etwa 60°. Das Gift tötete in frischem Zustande mit 0,15 ccm.

Meerschw. 727 erhielt 0,5 ccm des $\frac{1}{2}$, Stunde auf 60° erwärmten Giftes: 38,6, 38,3, 38,2, 38,4, 38,4, 38,4°, blieb munter.

Meerschw. 728 erhielt 2 ccm erhitzten Giftes: 38,5, 39,0, 37,5, 36,4, 36,0, 34,4°, Tod nach etwa 12 Stunden mit wenig Zellen, steril.

Es ist somit auch in bezug auf die Wärmeherabsetzung die mehr als 3-fache tödliche Giftmenge durch 60° unwirksam geworden, erst eine Steigerung der Menge auf etwa das 12-fache führt zum Tode des Tieres, bei dem aber der sonst sehr starke und rasche Wärmeabfall nur wenig hervortritt. Aber schon der nächste Versuch, bei dem die Schutzwirkung von Serum III gegen das erwärmte Gift festgestellt werden sollte, hatte ein ganz unverständliches Ergebnis.

Meerschw. 729 erhielt 2,5 ccm des $\frac{1}{2}$, Stunde auf 60° erwärmten Giftes XXVI mit 0,25 ccm NaCl-Lösung: 37,5, 39,3, 38,0, 38,5, 39,0, 38,8°, schien vollständig munter, starb nach 4 Tagen ohne Befund.

Meerschw. 730 erhielt die gleiche Giftmenge mit 0,025 ccm Serum III: 38,0, 39,2, 34,2, 29,7°, Tod nach 8 Stunden, fast zellfrei, steril.

Meerschw. 731 erhielt die gleiche Giftmenge mit 0,25 ccm Serum III: 37,9, 38,7, 39,0, 37,8, 38,4, 38,0°, blieb dauernd munter.

Bei Untersuchung eines neu hergestellten Giftes wiederholte sich die Unregelmäßigkeit des Ergebnisses.

Gift XXVII. 10 Kolleschalen, 18 Stunden alt, wurden in zusammen 50 ccm Wasser aufgeschwemmt; die erhaltene Gesamtflüssigkeit betrug (Kondenswasser) etwa 60 ccm und wurde 7 Stunden im Wasserbade bei 42° unter schnellem Absetzen gehalten. Von dem sofort abzentrifugierten Gifte werden etwa 30 ccm $\frac{1}{2}$, Stunde auf 60° erwärmt.

Bei der Auswertung erwies sich 0,1 ccm Frischgift als wenig wirksam (nur Wärmeabfall auf 35,6° nach 6 Stunden), 0,2 ccm bewirkten Wärmesturz bis 32,7° nach 6 und 8 Stunden, doch erholte sich das Versuchstier schließlich doch, 0,3 ccm ergaben sterilen Tod nach 12 Stunden. Von dem erhitzten Gifte erhielten:

Meerschw. 735 0,5 ccm ip.: 39,3, 39,0, 37,2, 36,0 36,5°, überlebt.

Meerschw. 736 1,5 ccm ip.: 39,5, 36,0°, Tod nach $5\frac{1}{2}$ Stunden, steril.

Meerschw. 737 2,5 ccm ip.: 36,5, 38,2, 36,8, 36,5, 37,0°, Tod nach 14—20 Stunden steril.

In diesem Versuche fällt einerseits die verhältnismäßig geringe Wärmesenkung auf, welche das erwärmte Gift hervorbringt, andererseits die Unregelmäßigkeit, daß das Tier mit 1,5 ccm einen viel schwereren Krankheitsverlauf und früheren Tod zeigte als das mit 2,5 ccm.

Der angeschlossene Versuch, die Serumwirkung gegen Frischgift und Hitzegift zu bestimmen, ergab, daß gegen ersteres 0,025 und 0,05 ccm Serum schützte, ebenso blieben von 4 Tieren mit je 2 ccm Hitzegift die mit 0,025, 0,05 und 0,1 ccm Serum III am Leben, während das Kontrolltier ohne Serum nach 9 Stunden starb. Es schien danach, als ob das Antitoxin gleichgut gegen Frischgift wie gegen die nach Erwärmung zurückbleibenden Giftreste schützen würde. Auch die beiden folgenden Versuche, bei denen die Beeinflussung von Serum III durch erhitztes Gift geprüft werden sollte, verliefen anscheinend regelmäßig in dem Sinne, daß das erhitzte Gift das Serum (0,025 und 0,05 ccm) zwar nicht mit 0,5, wohl aber mit 1 ccm gegen neu zugesetztes unerhitztes Gift unwirksam gemacht hatte.

Es wäre also trotz Giftabschwächung im Tierversuche die Bindungskraft für Antitoxin unverändert geblieben, ein Befund, der mit sonstigen aus der Lehre von den bakteriellen Giften Uebereinstimmung gezeigt hätte. Aber eine neuerliche Wiederholung hatte ein ganz anderes Ergebnis.

Es wurden angelegt:

- 1) 0,04 ccm Ser. III + 1 ccm Frischgift XXVII $\frac{1}{2}$ Std. 37°, dann $\frac{1}{2}$ Std. 60°.
- 2) 0,04 ccm Ser. III + 1 ccm Hitzegift XXVII $\frac{1}{2}$ Std. 37°, dann $\frac{1}{2}$ Std. 60°.
- 3) 0,04 ccm Ser. III + 1 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$ Std. 37°, dann $\frac{1}{2}$ Std. 60°.
- 4) 0 1 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$ Std. 37°, dann $\frac{1}{2}$ Std. 60°.

Danach erhielt jede Probe einen Zusatz von je 0,4 ccm Frischgift und wurde nach $\frac{1}{4}$ -ständiger Einwirkung damit mit je 0,002 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.

Meerschw. 755 mit Probe 1: 33,8, 33,2, 33,5, 32,6°, Tod nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden.
 " 756 " " 2: 38,0, 40,5, 40,4, 39,5, 39,5, 39,8°, überlebt.
 " 757 " " 3: 36,5, 37,6, 36,0, 35,5, 35,6, 35,2°, überlebt.
 " 758 " " 4: 34,5, 34,5, 32,5, 32,5, 30,5°, Tod nach 9 $\frac{1}{2}$ Stunden.

Diesmal war also zweifellos das Hitzegift vollständig ohne Einfluß auf die Schutzkraft des Serums geblieben, welche durch Frischgift sicher vollständig beseitigt wurde.

Der Versuch wurde bereits oben mitgeteilt, ebenso wie dessen Wiederholung mit den Tieren 759—764, welche ebenfalls beweist, daß mit der Erhitzung des Choleragiftes nicht nur dessen Giftigkeit, sondern auch die Bindungskraft für Serum verloren geht.

Nicht ganz diesem Schlusse entsprach ein anderer Versuch mit dem Gifte XXVIII.

1) 0,025 ccm Serum III + 0,4 ccm Wärmegift $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm Frischgift wieder 37°.

2) 0,025 ccm Serum III + 0,8 ccm Wärmegift $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm Frischgift wieder 37°.

3) 0,025 ccm Serum III + 0,4 ccm Frischgift $\frac{1}{2}$, Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm Wärmegift.

4) 0,025 ccm Serum III + 0,4 ccm Frischgift $\frac{1}{2}$, Stunde 37°, dann mit 0,8 ccm Wärmegift.

Meerschw. 791 mit Probe 1: 37,8, 37,2, 35,5, 34,3, 34,0, 34,5°, überlebt.

„ 792 „ „ 2: 37,4, 34,2, 31,9°, Tod nach 7 Stunden.

„ 793 „ „ 3: 38,5, 38,4, 36,3, 36,2, 36,4, 36,3°, überlebt.

„ 794 „ „ 4: 37,1, 39,0, 36,5, 36,5, 36,3, 37,5°, überlebt.

Die Versuchsanordnung ist so gewählt, daß schließlich jedes Tier die gleichen Mengen erhitzten und unerhitzten Giftes erhalten hat, nur daß auf das gleichzeitig mitgegebene Serum in den beiden ersten Proben zuerst Wärmegift, dann Frischgift eingewirkt hatte, in den beiden letzten Proben umgekehrt. Der am Vortage mit den gleichen Flüssigkeiten angestellte Versuch mit den Tieren No. 780—790 hatte gelehrt, daß 0,025 ccm Serum III durch 0,4 ccm Frischgift XXVIII derart gebunden werden, daß sie danach gegen die gleiche Menge Frischgift nicht mehr zu schützen vermögen, während das erste Gift tatsächlich unwirksam gemacht wird. Das beweisen auch die Tiere 793 und 794 des jetzigen Versuches, welche gleichzeitig zeigen, daß der Zusatz von 0,4 und 0,8 ccm Wärmegift zu dieser neutralisierten Mischung wirkungslos bleibt, daß also auch diese Mengen von Wärmegift nicht zu töten imstande sind. Gleichwohl haben sie 0,025 ccm Serum III ebenfalls beeinflussen können, so daß Tier 792 gestorben ist, Meerschw. 791 wenigstens schwere Wärmesenkungen zeigte.

Aber auch dieses Gift zeigte im erhitzten Zustande derartige Unregelmäßigkeiten, daß die damit angestellten Versuche nur mit Vorsicht gebraucht werden können.

So wurden zur Ermittlung des Serumschutzes gegen dasselbe angelegt:

1) 2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 60° + 0,025 ccm Serum III + 0,1 ccm Normalschafserum.

2) 2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 60° + 0,125 ccm Serum III.

3) 2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 60° + 0,125 ccm Normalschafserum.

4) 2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 60° + 0,125 ccm NaCl-Lösung.

Nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung bei 37° wurden alle Proben mit je 0,002 ccm Wiener Immunsersum eingespritzt.

Meerschw. 795 mit Probe 1: 38,1, 38,0, 38,0, 38,2, 38,9, 37,8°, ohne Krankheit, überlebt.

„ 796 „ „ 2: 37,3, 36,8, 32,5, 29,8°, Tod nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden.

„ 797 „ „ 3: 37,1, 34,3°, Tod nach 5 $\frac{1}{2}$ Stunden.

„ 798 „ „ 4: 37,9, 36,1°, Tod nach fast 6 Stunden.

Bei allen Tieren große Zellarmut und Sterilität der Bauchhöhle.

Da von 4 Tieren 3 nach Einspritzung von 2 ccm Wärmegift gestorben waren, mußte man wohl das krankheitslose Ueberleben des letzten auf Serumschutz zurückführen. Warum aber hat nur die geringste Serummengde gewirkt?

Tatsächlich ergab die Wiederholung des Versuches ziemlich das entgegengesetzte Resultat.

Es wurden angelegt:

- 1) 2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 60° + 0,025 ccm Serum III + 0,2 ccm Normalschafserum.
- 2) 2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 60° + 0,25 ccm Serum III.
- 3) 2 ccm Gift XXVIII $\frac{1}{2}$, Stunde 60° + 0,25 ccm Normalschafserum.

Nach $\frac{1}{2}$ -ständiger Einwirkung bei 37° mit je 0,002 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.

Meersch. 799 mit Probe 1: 38,9, 38,4, 36,8, 36,5, 37,0, 36,0°, Tod nach 22 Stunden, viele Zellen, steril.
 „ 800 „ „ 2: 38,6, 39,2, 36,2, 36,0, 37,3, 36,2°, ohne besondere Krankheit.
 „ 801 „ „ 3: 38,2, 38,6, 35,7, 36,8, 37,1, 36,8°, ohne besondere Krankheit.

Es hatte also diesmal das Kontrolltier und das Tier mit der höheren Serumgabe überlebt, das Tier mit der kleinen Serummengende, der gleichen, welche am Vortage gegen das gleiche Gift geschützt hatte, war gestorben.

Es ist klar, daß bei dieser Unsicherheit des Tierversuches zunächst nur sehr bedingte Schlüsse gezogen werden konnten. In diesem Zusammenhange sei darauf hingewiesen, daß auch bei Verwendung erhitzter Vibrionen Unregelmäßigkeiten nicht ausblieben.

Es wurden 4 Schrägagarkulturen von Cholera Kadikjöji in 4 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und ein Teil davon $\frac{1}{2}$, Stunde bei 60° erhitzt.

Meersch. 802 erhielt 0,2 ccm der lebenden Aufschwemmung mit 0,01 ccm Wiener Immunserum ip.: 38,7, 38,2, 33,5, 33,0, 33,2, 34,5°, war schwerst krank und erholte sich gegen Erwarten.

Meersch. 803 erhielt 0,4 ccm der erhitzten Aufschwemmung ($\frac{1}{2}$ Kultur) ip.: 39,5, 38,0, 34,8, 35,0, 36,0 36,4°, überlebte.

„ 804 erhielt 1 ccm erhitzter Aufschwemmung (1 Kultur) ip.: 39,1, 37,6, 34,6, 34,0, 33,2°, Tod nach 11 $\frac{1}{2}$ Stunden, fast zellfrei, steril.

„ 805 erhielt 2 ccm erhitzter Aufschwemmung (2 Kulturen) ip.: 39,2, 37,2, 33,6°, Tod nach 7 Stunden, fast zellfrei, steril.

Das Ueberleben von Meersch. 802 mit $\frac{1}{2}$ Kultur, die sonst stets tödlich war, ist bei der ungemeinen Schwere der erfolgten Krankheit wohl wirklich nur auf einen Zufall zu beziehen; im übrigen scheint der Versuch regelmäßig genug, um daraus 1 Kultur als die tödliche Menge für erhitzte Bacillen abzuleiten. Es sollte nunmehr der Schutzwert von Serum III gegen solche Vibrionen festgestellt werden. Dazu wurden angelegt:

- 1) 2 ccm Aufschwemmung 60° (1 Kultur) + 0,025 ccm Serum III + 0,075 ccm Normalschafserum.
- 2) 2 ccm Aufschwemmung 60° (1 Kultur) + 0,05 ccm Serum III + 0,05 ccm Normalschafserum.

3) 2 ccm Aufschwemmung 60° (1 Kultur) + 0,1 ccm Serum III.

4) 2 ccm Aufschwemmung 60° (1 Kultur) + 0,1 ccm Normalschafserum.

Nach $\frac{1}{2}$ -ständiger Einwirkung bei 37° mit je 0,01 ccm Wiener Immuns-
serum eingespritzt.

Meerschw. 806 mit Probe 1: 38,5, 37,5, 35,2, 35,0, 34,6°, Tod nach 13 Stunden,
viel Zellen, steril.

„ 807 „ „ 2: 37,2, 36,0, 34,5, 34,7, 36,2, 36,5°, überlebt.

„ 808 „ „ 3: 38,5, 37,2, 35,5, 35,6, 36,5, 36,2°, überlebt.

„ 809 „ „ 4: 38,3, 37,2, 35,0, 35,9, 36,7, 36,3°, überlebt.

Es hatte also im Gegensatze zum Versuche des Vortages, wo bereits
1 erwärmte Kultur tödlich war, diesmal das Kontrolltier überlebt, ein Tier
mit der kleinsten Serummengung war gestorben.

Es ist auf diese für den Untersucher höchst störenden
Verhältnisse näher eingegangen und die Versuche sind aus-
führlich angeführt worden, weil auch seitens anderer Unter-
sucher der Endotoxine über derartige Unregelmäßigkeiten nicht
selten geklagt wird. Meist wird dafür eine in weiten Grenzen
schwankende „individuelle“ Verschiedenheit in der Empfind-
lichkeit der Versuchstiere als Grund angeführt, was natürlich
nur ein Verlegenheitsausdruck ist. Es wäre aber möglich, daß
die Erhitzung auf 60° in den Giftlösungen und auch in den
Vibrionen selbst zwar Veränderungen hervorruft, daß diese aber
noch nicht vollständig abgeschlossen sind, so daß eine solche Gift-
lösung überhaupt noch keine ständigen Verhältnisse darbietet.

Einen Anhaltspunkt für diese Ansicht ergab bereits die
Untersuchung des nächsten Giftes XXX, welches in der ge-
wöhnlichen Weise hergestellt war, bei dem aber die Erhitzung
so vorgenommen wurde, daß die Lösung tief in ein kaltes
Wasserbad eingetaucht wurde, welches ganz allmählich im
Verlauf von etwa 20 Minuten auf 60° gebracht und dann
 $\frac{1}{2}$ Stunde bei dieser Wärme gehalten wurde.

Die Auswertung des frischen und des erhitzten Giftes ergab:

Meerschw. 810 erhält 0,15 ccm Frischgift mit 0,002 ccm Wiener Immun-
serum in 2 ccm: 36,8, 35,4, 31,9, 31,0, 32,3°, nach schwerer
Krankheit schließlich erholt.

„ 811 erhält 0,3 ccm Frischgift unter gleichen Bedingungen: 34,1,
30,0, 29,0, weniger als 29°, Tod nach 9 Stunden, fast zell-
frei, steril.

„ 812 erhält 0,6 ccm erhitztes Gift mit 0,002 ccm Wiener Immun-
serum in 2 ccm: 38,0, 38,0, 37,1, 36,7, 36,2°, überlebt.

„ 813 erhält 1,2 ccm erhitztes Gift unter gleichen Bedingungen:
38,5, 38,6, 36,9, 37,4, 37,3°, überlebt.

„ 814 erhält unter gleichen Bedingungen 1,8 ccm erhitztes Gift:
37,5, 37,8, 35,6, 35,5, 35,2°, überlebt.

0,15 ccm Frischgift war also noch nicht tödlich, kommt dieser Menge aber jedenfalls ganz nahe; das erhitzte Gift vermochte mit der mehr als 10-fach höheren Menge nur verhältnismäßig wenig Temperatursenkung hervorzubringen, ist somit in sehr hohem Grade abgeschwächt.

Für die folgenden Bestimmungen wurde nun nicht nur auf gleiches Gewicht der Versuchstiere, sondern auch auf möglichst gleiche Färbung derselben geachtet, z. B. nur helle oder dunkle Tiere verwendet. Die Meer-schweinchen des folgenden Versuches 818—821 sind z. B. reine Albinos und Geschwisterpaare, im Alter 2 Tage auseinander.

Die Versuchsflüssigkeiten wurden gemischt und auf 2,5 ccm gebracht, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten, ehe sie mit je 0,002 ccm Wiener Immunsrum eingespritzt wurden.

- Meersch. 815 erhält 0,4 ccm Frischgift XXX mit 0,01 ccm Serum III ip.: 37,6, 34,8, 34,9, 34,7°, nach schwerer Krankheit erholt.
- „ 816 erhält 0,4 ccm Frischgift XXX mit 0,025 ccm Serum III ip.: 37,2, 38,5, 35,9, 36,4°, überlebt.
- „ 817 erhält 0,4 ccm Frischgift XXX mit 0,05 ccm Serum III ip.: 38,6, 38,6, 36,1, 37,7°, überlebt.
- „ 818 mit 2,5 ccm Wärmegift XXX und 0,01 ccm Serum III ip.: 37,2, 37,5, 35,5, 37,0°, überlebt.
- „ 819 mit 2,5 ccm Wärmegift XXX und 0,025 ccm Serum III ip.: 37,5, 38,5, 36,3, 37,4°, überlebt.
- „ 820 mit 2,5 ccm Wärmegift XXX und 0,05 ccm Serum III ip.: 34,8 (I), 38,3, 36,5, 37,3°, überlebt.
- „ 821 mit 2,5 ccm Wärmegift XXX allein ip.: 36,3, 36,6, 34,9, 34,8°, stirbt in der gleichen Nacht mit wenigen Zellen, steril.

Es hatte somit schon 0,01 ccm Serum III deutlich, wenn auch nicht vollständig gegen die reichlich doppelte Gabe von Frischgift schützen können, aber auch gegen das erhitzte Gift, das mit 2,5 ccm eben knapp zu töten vermochte.

Zwar war auch jetzt im Versuche des nächsten Tages die ermittelte Menge von 2,5 ccm Wärmegift nicht mehr tödlich, immerhin gestattete der etwas verwickelte Versuch, der damit angestellt wurde, lehrreiche Schlüsse.

- 1) 0,02 ccm Serum III + 0,5 ccm Frischgift XXIX + 2 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann $\frac{1}{2}$ Stunde Zimmertemperatur und zugesetzt 0,4 ccm Frischgift.
- 2) 0,02 ccm Serum III + 0,5 ccm Frischgift XXIX + 2 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann $\frac{1}{2}$ Stunde 60° und zugesetzt 0,4 ccm Frischgift.
- 3) 0,02 ccm Serum III + 0,5 ccm Gift XXIX 60° + 2 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann wie 2.
- 4) 0,02 ccm Serum III + 1,25 ccm Gift XXIX 60° + 1,25 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann wie 2.
- 5) 0,02 ccm Serum III + 2,5 ccm Gift XXIX 60°, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann wie 2.
- 6) 0,02 ccm Serum III + 2,5 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann $\frac{1}{2}$ Stunde 60° und zugesetzt 0,4 ccm Frischgift.
- 7) 0,02 ccm Serum III + 2 ccm NaCl, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann $\frac{1}{2}$ Stunde Zimmertemperatur und zugesetzt 0,4 ccm Frischgift + 0,5 ccm Gift XXIX 60°.

- 8) 0,02 ccm Serum III + 1,25 ccm NaCl, wie 7 mit 0,4 ccm Frischgift und 1,25 ccm Gift XXIX 60°.
- 9) 0,02 ccm Serum III, wie 7 mit 0,4 ccm Frischgift und 2,5 ccm Gift XXIX 60°.
- 10) 0,4 ccm NaCl, wie 7, aber nur 2,5 ccm Gift XXIX 60° zugesetzt.

Nach dem Zusatze der zweiten Giftportion bleiben die Proben noch 20 Minuten bei 37° und werden dann mit je 0,002 ccm Wiener Immuns-
serum eingespritzt.

Meersch.	822	mit	Probe 1:	36,2, 33,4, 30,0, unter 29°, Tod nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden, steril.
„	823	„	2:	35,2, 31,3, unter 29°, Tod nach 6—8 Stunden, steril.
„	824	„	3:	36,8, 36,7, 36,1, 35,0°, war sehr krank, erholte sich langsam.
„	825	„	4:	37,4, 37,3, 36,4, 35,6°, kaum krank.
„	826	„	5:	33,8, 34,7, 33,1, 29,4°, Tod nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden.
„	827	„	6:	37,3, 38,5, 36,5, 34,4°, kaum krank.
„	828	„	7:	37,7, 38,2, 36,5, 36,8°, kaum krank.
„	829	„	8:	37,2, 36,8, 36,6, 35,2°, ohne deutliche Krankheit.
„	830	„	9:	36,9, 36,5, 35,2, 33,3°, sehr krank, lebt aber 30 Stunden.
„	831	„	10:	36,9 37,2, 37,0, 35,2°, war krank, sehr langsam erholt.

Abgesehen von der kleinen Unregelmäßigkeit, daß No. 824 deutlich schwerer krank wurde als No. 825, erscheint der Versuch ebenso lehrreich wie beweisend. 0,02 ccm des antitoxischen Serums ist, wie No. 827 zeigt, gerade hinreichend, um den Tod zu verhüten, ohne Krankheit vollständig verhindern zu können; es wurde somit sicher mit keinem Serumüberschusse gearbeitet. Frischgift hebt in wenig mehr als der zum zweiten Giftzusatz dienenden Menge die Serumwirkung vollständig auf, gleichgültig, ob die Mischungen nach der gegenseitigen Einwirkung erhitzt wurden oder nicht (No. 822 und 823). Vom erhitzten Gifte ist 2,5 ccm, welche Menge im Vorversuche (s. No. 821) tödlich war, jetzt nur noch schwer krankmachend. Diese Menge vermag aber ebenfalls scheinbar 0,02 ccm Serum unwirksam zu machen (No. 826), während 0,5 und 1,25 ccm des Wärmegiftes dazu nicht mehr imstande sind. Die Serumbindung ist aber nur scheinbar, weil Tier 830, bei dem das Wärmegift nicht vor Zusatz des Frischgiftes auf das Serum eingewirkt hatte, sondern wo eine Mischung von frischem und erhitztem Gift das Serum beeinflußt hatte, ebenfalls stirbt; das ist jedenfalls darauf zurückzuführen, daß eine Spur nicht beseitigten Frischgiftes und der Rest der Giftwirkung, der im erhitzten Gifte zurückbleibt, sich summiert hatten. Hingegen blieben die Tiere 828 und 829 ohne wesentliche Krankheit und zeigen, daß die eben knapp zur Todesverhütung ausreichende Menge Serum durch Wärmegift gar nicht beeinflußt wird; sonst hätten diese Tiere sterben müssen, da ja 0,4 ccm Frischgift allein noch nicht gänzlich neutralisiert sind.

Ähnliche Schlüsse ergab die Untersuchung des folgenden Giftes XXX. Von diesem machte 0,1 ccm Meersch. 867 schwer krank, 0,2 ccm tötete Meersch. 868 in 8 Stunden. Nach vorsichtiger Erhitzung (von 21° an-

gefangen, innerhalb 25 Minuten auf 60° gestiegen, dann $\frac{1}{2}$ Stunde bei dieser Temperatur) rief 0,5 ccm keine Wärmesenkung bei Meerschw. 869 hervor, Meerschw. 870 und 871 mit 1,5 und 2,5 ccm starben nach 11 $\frac{1}{2}$ und 9 $\frac{1}{2}$ Stunden. Gegen 0,4 ccm des unerhitzten Giftes schützte Serum III mit 0,025 und 0,05 ccm vollständig, nicht mehr 0,01 ccm. Es wurden nun angesetzt:

- 1) 0,03 ccm Serum III + 0,2 ccm Gift XXX + 1,6 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm Gift XXX wieder $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 2) 0,03 ccm Serum III + 0,4 ccm Gift XXX + 1,4 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm Gift XXX wieder $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 3) 0,03 ccm Serum III + 0,4 ccm Gift 60° + 1,4 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm Gift XXX wieder $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 4) 0,03 ccm Serum III + 0,8 ccm Gift 60° + 1,0 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm Gift XXX wieder $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 5) 0,03 ccm Serum III + 1,6 ccm Gift 60° + 0,2 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm Gift XXX wieder $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 6) 0,03 ccm Serum III + 0,8 ccm Gift 60° + 1,0 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm NaCl-Lösung wieder $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 7) 0,03 ccm Serum III + 1,6 ccm Gift 60° + 0,2 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm NaCl-Lösung wieder $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 8) 0,3 ccm NaCl-Lösung + 0,8 ccm Gift 60° + 1,0 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm NaCl-Lösung wieder $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 9) 0,3 ccm NaCl-Lösung + 1,6 ccm Gift 60° + 0,2 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,4 ccm NaCl-Lösung wieder $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.

Die Proben wurden sodann mit je 0,002 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.

Meerschw. 882	mit Probe 1:	33,7, 32,1°, Tod nach 5 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellfrei, steril.
„ 883	„ „ 2:	31,9, 32,5, 31,0°, Tod nach 6 Stunden, fast zellfrei, steril.
„ 884	„ „ 3:	37,5, 38,1, 34,6, 34,0, 34,6, 34,4°, überlebt.
„ 885	„ „ 4:	35,8, 39,2, 36,5, 35,4, 36,0, 36,0°, überlebt.
„ 886	„ „ 5:	35,4, 38,1, 34,6, 33,2, 32,8°, Tod nach etwa 10 Stunden, steril.
„ 887	„ „ 6:	38,2, 40,0, 38,2, 37,8, 39,2, 38,5°, überlebt.
„ 888	„ „ 7:	38,3, 38,8, 36,2, 36,6, 38,3, 37,5°, überlebt.
„ 889	„ „ 8:	36,2, 37,9, 36,2, 35,3, 35,8, 36,8°, überlebt.
„ 890	„ „ 9:	33,7, 36,0, 36,5, 36,0, 35,0, 35,3°, überlebt.

Auch hier tritt noch die Unverläßlichkeit der Einwirkung erhitzter Gifte hervor, indem im Gegensatz zu Auswertungsversuche, wo 1,5 ccm getötet hatte, jetzt 1,6 ccm diese Wirkung nicht mehr hervorzubringen vermochte. Was an der Wärmebeobachtung bei den Tieren 889 und 890 noch von Krankheit zu erkennen ist, scheint bei Meerschw. 887 und 888 durch das Serum III glatt beseitigt zu sein. Dabei ist aber aufs deutlichste zu erkennen, daß die Bindungskraft des erhitzten Giftes für Serum äußerst herabgesetzt sein muß, da erst 1,6 ccm 0,03 ccm Serum derart beeinflusste, daß es dann nicht mehr gegen 0,4 ccm Frischgift schützte. Dieses selbst brachte die Aufhebung des Serumschutzes mit 0,2 ccm, also weniger, als die Menge, gegen welche das Serum leicht geschützt hätte, zustande.

Es kann also als feststehend angesehen werden, daß das antitoxische Choleraserum durch unverändertes Gift verhältnismäßig leicht, durch erhitztes Gift nur sehr wenig gebunden wird; das Gift verliert durch Hitze ebenso an Wirkungswert, wie an Bindungskraft für Antitoxin.

Was nun die Schutzwirkung des antitoxischen Serums gegen lebende, aber durch Beigabe bakteriziden Serums nicht vermehrungsfähige Vibrionen betrifft, so ist dieselbe, wie früher schon erwähnt wurde, zwar recht regelmäßig nachweisbar, wenn die eben tödlichen Gaben oder nur wenig mehr von Vibrionen verwendet werden, aber sie ist auch dann nur dürftig, und starke Wärmesenkungen und offensichtliche Krankheit sind nicht zu vermeiden. Dazu ist dieser Schutz äußerst hinfällig und leicht durch jede Behandlung des Serums aufzuheben.

Es wurden angelegt:

- 1) 0,2 ccm Serum III + $\frac{1}{5}$ Kultur lebender Cholera Kadikjöji in 2,2 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$, Stunde 37°; danach wurde zentrifugiert und der Abguß verteilt:
 - a) 1,2 ccm + $\frac{1}{5}$ Kultur lebend in 1 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$, Stunde 37°, dann mit 0,005 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.
 - b) 0,3 ccm + 0,4 ccm Gift XXIX + 1,5 ccm NaCl-Lösung, sonst wie a.
 - c) 0,9 ccm + 0,4 ccm Gift XXIX + 0,9 ccm NaCl-Lösung, sonst wie a.

Meerschw. 838 mit Probe 1a: 37,6, 34,9, 31,8, 29,1°, Tod nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden, steril.
 „ 839 „ „ 1b: 35,6, 38,0, 36,4, 35,8, 36,2, 36,8°, überlebt.
 „ 840 „ „ 1c: 37,0, 38,2, 38,1, 37,2, 37,2, 38,1°, überlebt.
- 2) 0,2 ccm Serum III + 1,0 ccm Gift XXIX + 1,2 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$, Stunde 37°, dann verteilt:
 - a) 1,2 ccm + $\frac{1}{5}$ Kultur lebend in 1,0 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$, Stunde 37°, dann mit 0,005 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.
 - b) 0,3 ccm + 0,4 ccm Gift XXIX + 1,5 ccm NaCl-Lösung, sonst wie a.
 - c) 0,9 ccm + 0,4 ccm Gift XXIX + 0,9 ccm NaCl-Lösung, sonst wie a.

Meerschw. 841 mit Probe 2a: 36,3, 35,6°, Tod nach 6 Stunden, steril.
 „ 842 „ „ 2b: 35,8, 37,1, 37,2, 37,2, 37,0, 37,5°, überlebt.
 „ 843 „ „ 2c: 38,6, 39,2, 37,1, 35,5°, Tod nach fast 10 Stunden, steril.
- 3) 0,2 ccm Serum III + 2,2 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$, Stunde 37°, dann verteilt:
 - a) 1,2 ccm + $\frac{1}{5}$ Kultur lebend in 1,0 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$, Stunde 37°, dann mit 0,005 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.
 - b) 0,3 ccm + 0,4 ccm Gift XXIX + 1,5 ccm NaCl-Lösung, sonst wie a.
 - c) 0,9 ccm + 0,4 ccm Gift XXIX + 1,5 ccm NaCl-Lösung, sonst wie a.

Meerschw. 844 mit Probe 3a: 37,5, 34,6, 32,6, 32,1, 32,1, 33,2°, überlebt nach Krankheit.
 „ 845 „ „ 3b: 38,3, 40,0, 39,1, 39,0, 39,0, 39,5°, überlebt.

Die Probe 3c wurde nicht eingespritzt. Das Kontrolltier 846 mit $\frac{1}{5}$ Kultur lebender Cholera und 0,005 ccm Wiener Immunserum hatte: 33,5, 30,0, 29,0, 29,0°, Tod nach mehr als 8 Stunden, steril; Kontrolltier 847 mit 0,4 ccm Gift XXIX und Wiener Immunserum: 35,2, 32,5, 29,2°, Tod nach 8 Stunden, steril.

In dem Versuche war der Tod von Meersch. 843 unerwartet und nicht erklärlich; das Tier starb sozusagen aus vollem Wohlbefinden heraus, und die Eröffnung ergab keinen erklärenden Befund. Im übrigen ist aufs deutlichste zu erkennen, daß 0,1 ccm Serum III gegen $\frac{1}{5}$ Kultur eben notdürftig schützt, ohne Krankheit verhüten zu können, und daß dieser Schutz durch jede Beeinflussung des Serums, ob durch Vibrionen oder durch Gift, glatt aufgehoben wird. Die Beeinflussung ist dabei eine so geringe gewesen, daß selbst die 0,025 ccm Serum III entsprechende Menge der Versuchsfüssigkeiten noch vollen Schutz gegen 0,4 ccm Gift gewährt.

Eine Wiederholung hatte den gleichen Erfolg. Dabei wurden je 0,3 ccm Serum III mit $\frac{1}{5}$, $\frac{2}{5}$ und $\frac{3}{5}$ Kultur behandelt und die Hälfte des behandelten Serums mit $\frac{1}{5}$ Kultur nach $\frac{1}{2}$ -ständiger Einwirkung bei 37° eingespritzt. Es zeigte sich, daß die Schutzkraft, welche auch beim Kontrolltier nur den Tod, nicht aber schwere Krankheit verhütet hatte, nach Behandlung mit $\frac{1}{5}$ Kultur noch spurenweise vorhanden, sonst vollständig verloren war. Das gleiche war der Fall nach Behandlung von je 0,3 Serum mit 1,2 und 2,4 ccm Gift XXIX. Der Giftschutz war in allen Fällen so vollkommen erhalten, daß die 0,025 ccm Serum III entsprechende Menge der Versuchsfüssigkeiten gegen 0,4 ccm Gift schützte.

Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß der an sich sehr starke Giftschutz des antitoxischen Serums durch lebende Vibrionen nur sehr schwer und auch durch Gift nicht ganz leicht aufzuheben ist, während der an sich dürftige Schutz, den das Serum gegen Vergiftung mit Vibrionen gewährt, sowohl durch Gift wie durch geformte Bacillen überaus leicht zerstört werden kann.

Nicht nur lebende, also unveränderte, sondern auch durch Hitze abgetötete Vibrionen zerstören den Bacillenschutz.

Es werden angelegt:

- 1) 0,15 ccm Serum III + $\frac{1}{5}$ Kultur lebend $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, zum Abgüsse $\frac{1}{5}$ Kultur 37°.
- 2) 0,15 ccm Serum III + $\frac{1}{5}$ Kultur 60°, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, zum Abgüsse $\frac{1}{5}$ Kultur 37°.
- 3) 0,45 ccm Serum III + $\frac{1}{5}$ Kultur lebend $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, zum Abgüsse $\frac{1}{5}$ Kultur 37°.

- 4) 0,45 ccm Serum III + $\frac{1}{5}$ Kultur 60°, $\frac{1}{5}$ Stunde 37°, zentrifugiert, zum Abgusse $\frac{1}{5}$ Kultur 37°.
- 5) 0,15 ccm Serum III + 2 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$ Stunde 37°, dann $\frac{1}{5}$ Kultur zugesetzt 37°.
- 6) 0,45 ccm Serum III + 2 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$ Stunde 37°, dann $\frac{1}{5}$ Kultur zugesetzt 37°.

Nach $\frac{1}{5}$ -stündigem Stehen der Proben bei 37° wurden sie mit je 0,05 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.

- Meersch. 875 mit Probe 1: 36,5, 32,5, 31,0, 31,0°, Tod nach 8 Stunden, steril.
 „ 876 „ „ 2: 38,1, 35,7, 32,8, 31,1°, Tod nach 8 $\frac{1}{4}$ Stunden, steril.
 „ 877 „ „ 3: 38,4, 37,8, 35,1, 33,9, 33,9, 34,5°, nach schwerer Krankheit überlebt.
 „ 878 „ „ 4: 37,9, 35,7, 31,8, 31,2, 30,9, 30,9°, nach schwerster Krankheit überlebt.
 „ 879 „ „ 5: 38,5, 38,5, 37,5, 36,5, 36,5, 37,1°, überlebt.
 „ 880 „ „ 6: 38,4, 37,4, 35,0, 34,5, 35,2, 36,8°, überlebt.
 „ 881, Kontrolltier ohne Serum: 34,6, 32,1, 29,9°, Tod nach 5 $\frac{1}{2}$ Stunden, steril.

Sowohl 0,15 als 0,45 ccm Serum III hatten gegen die Folgen der Einspritzung von $\frac{1}{5}$ Kultur lebender Vibrionen schützen können, wobei, wie dies nicht selten vorkam, die niedrigere Serummengende der Wärmebeobachtung nach noch besser gewirkt hatte. 0,15 ccm Serum waren durch vorhergehende Behandlung mit $\frac{1}{5}$ lebender oder erhitzter Kultur ganz unwirksam geworden, und auch die dreifache Serummengende war schwer geschädigt.

Es wurden angelegt:

- 1) 0,2 ccm Serum III + $\frac{2}{5}$ Kultur lebend in 2,2 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$ Stunde 37°, zentrifugiert.
 Zu 1,8 ccm Abguß (= 0,15 ccm Serum III) $\frac{1}{5}$ Kultur lebend $\frac{1}{5}$ Stunde 37° mit 0,05 ccm Wiener Immunserum an Meersch. 899: 36,5, 32,6, 31,2, 31,5°, schien verloren, erholte sich aber.
 Zu 0,36 ccm Abguß (= 0,03 ccm Serum III) 0,4 ccm Gift XXX $\frac{1}{5}$ Stunde 37° mit 0,05 ccm Wiener Immunserum an Meersch. 900: 37,2, 36,4, 35,3°, bleibt ohne Krankheit.
- 2) 0,2 ccm Serum III + $\frac{2}{5}$ Kultur $\frac{1}{5}$ Stunde 60° in 2,2 ccm NaCl-Lösung, $\frac{1}{5}$ Stunde 37°.
 Zu 1,8 ccm Abguß $\frac{1}{5}$ Kultur lebend, $\frac{1}{5}$ Stunde 37°, mit 0,05 ccm Wiener Immunserum an Meersch. 901: 36,2, 31,9, weniger als 29°. Tod nach 8 Stunden, steril.
 Zu 0,36 ccm Abguß 0,4 ccm Gift XXX, $\frac{1}{5}$ Stunde 37°, mit 0,05 ccm Wiener Immunserum an Meersch. 902: 36,8, 37,1, 35,5°, ohne Krankheit.
- 3) 0,2 ccm Serum III + 2 ccm Frischgift XXX + 0,2 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{5}$ Stunde 37°.
 Zu 1,8 ccm Abguß $\frac{1}{5}$ Kultur lebend, $\frac{1}{5}$ Stunde 37°, mit 0,05 ccm Wiener Immunserum an Meersch. 903: 34,8°, Tod nach 4 $\frac{1}{2}$ Stunden, steril.
 Zu 0,36 ccm Abguß 0,4 ccm Gift XXX, $\frac{1}{5}$ Stunde 37°, dann mit 0,05 ccm Wiener Immunserum an Meersch. 904: 33,5, 33,2, 32,4°, sehr krank, schließlich erholt.

- 4) 0,2 ccm Serum III + 2 ccm Gift XXX, $\frac{1}{2}$ Stunde 60° + 0,2 ccm NaCl-Lösung, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.

Zu 1,8 ccm Abguß $\frac{1}{2}$ Kultur lebend, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, mit 0,05 ccm Wiener Immunserum an Meersch. 905: 33,4°, Tod nach etwa 4 Stunden, steril.

Zu 0,36 ccm Abguß 0,4 ccm Gift XXX, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,05 ccm Wiener Immunserum an Meersch. 906: 37,3, 36,9, 36,5°, ohne Krankheit.

Kontrolltier 907 mit der entsprechenden Menge Serum und $\frac{1}{2}$ Kultur lebend: 37,8, 34,2, 33,2°, überlebt nach Krankheit; Kontrolltier 908 mit der entsprechenden Menge Serum und 0,4 ccm Gift: 38,1, 37,2, 37,3°, ohne Krankheit, überlebt; die Kontrolltiere 909 und 910 mit Kultur und Gift allein starben nach 9 und 10 Stunden.

Der Bacillenschutz des Serums III, an sich, wie die schwere Erkrankung von Meersch. 907 beweist, schon sehr dürftig, wird somit durch jede Behandlung des Serums, mit lebenden und toten Vibrionen, frischem und erhitztem Gifte aufgehoben; daß das Tier 899 mit dem mit lebenden Vibrionen behandelten Serum verhältnismäßig lange lebte, ist angesichts der schweren Krankheit, die gleich nach der Impfung eintrat, wohl nur reiner Zufall; hingegen ist der Giftschutz weder durch lebende noch durch erhitzte Vibrionen und erhitztes Gift in den angewendeten Mengen beeinflussbar und nur die Behandlung mit unverändertem Gifte hat ihn zum Teil beseitigt.

Der durch ein antitoxisches Choleraserum ausgeübte Schutz gegen Vergiftung mit geformten Vibrionen unterscheidet sich somit von dem gegen gelöstes Gift nicht nur durch den Grad der Wirksamkeit, sondern auch durch seine außerordentliche Hinfälligkeit: er wird durch Eingriffe zerstört, welche den Giftschutz so gut wie unberührt lassen. Auch hieraus ist zu schließen, daß ein antitoxisches Choleraserum selbst von großer Wertigkeit gegen die wirkliche Choleravergiftung nahezu als unwirksam bezeichnet werden muß, eine Folgerung, welche mit der von Pfeiffer und Bessau erlangten ganz übereinstimmt.

In diesem Zusammenhange sei erwähnt, daß ein erhitztes Cholera Gift, von dem nach den mitgeteilten Versuchen angenommen werden muß, daß es nicht nur seine Giftigkeit, sondern auch seine Bindungskraft für Antitoxin eingebüßt hat, gleichwohl noch einen Rest von Wirkung im Tierversuche erkennen läßt, indem es noch Immunität hervorzubringen vermag.

Zum Versuche dienten Tiere, welche früher zur Prüfung der Giftigkeit erhitzten Giftes gedient hatten.

Meersch. 727 hatte am 30. Juni 0,5 ccm erhitzten Giftes XXVI, am 2. August 1 ccm erhitzten Giftes XXIX erhalten, am 21. August 0,4 ccm Frischgift XXX ip.: 35,5, 34,2, 33,8, 33,5, 36,1°, bleibt am Leben.

Meerschw. 731 hatte am 1. Juli 2,5 ccm erhitzten Giftes XXVI mit 0,25 ccm Serum III, am 2. August 1 ccm erhitzten Giftes XXIX erhalten; am 21. August wie voriges: 35,1, 33,9, 34,6, 35,4, 34,9°, bleibt am Leben.

Meerschw. 735 hatte am 1. Juli 1 ccm erhitzten Giftes XXVII, am 2. August 1 ccm erhitzten Giftes XXIX erhalten; am 21. August wie vorige: 36,3, 32,4, 35,0, 35,6, 34,8°, bleibt am Leben.

Meerschw. 892, unbehandeltes Kontrolltier, am 21. August in gleicher Weise vergiftet: 35,3, 31,2, 31,1, 31,5, 29,9°, Tod in der gleichen Nacht, zellfrei, steril.

Daß mit erhitztem Gifte vorbehandelte Tiere nachher gegen Einspritzung lebender Vibrionen geschützt sind, ist bei dem Charakter des Giftes als eines Bacillenauszeuges erklärlich.

Nach den mitgeteilten Erfahrungen müssen somit die eigenen Versuche, mittels besonders giftreicher Cholerastämme Antitoxine herzustellen und auf diesem Wege zu einer erfolgreichen Behandlung der Choleravergiftung zu gelangen, als ebenso gescheitert angesehen werden, wie die der früheren Untersucher nach der Kritik R. Pfeiffers. Es ist daher auch der früher gezogene Schluß nicht mehr aufrechtzuerhalten, daß bei Cholera und Halbparasiten überhaupt ähnliche Verhältnisse vorliegen, wie etwa bei Diphtheriebacillen, wo auch nur sehr wenige Stämme so viel Gift bilden, daß ein aussichtsreiches Studium desselben möglich ist und wo doch das dabei Gefundene auch für die giftarmen Stämme Geltung hat. Es erscheint vielmehr die starke Giftbildung einiger Cholerasträmme mehr als eine interessante Nebenerscheinung, die vielleicht für die Infektion mit solchen Stämmen eine große Bedeutung hat, die Vergiftung mit den Vibrionen selbst aber nicht restlos zu erklären vermag. Es bleibt die Wirkung der sogenannten Endotoxine übrig, welche für die Giftigkeit der Mehrzahl der vom Menschen stammenden Vibrionen allein in Betracht kommt und gegen welche ein sicherer, nennenswerter Schutz bisher nicht aufgefunden wurde.

Gleichwohl muß es einen solchen doch geben. Darauf deuten die Verhältnisse bei aktiver Immunität von Meer-schweinchen hin. Tatsächlich kann man Tieren, welche intra-peritoneal in der verschiedensten Weise (mit frischem oder erhitztem Gifte, mit lebenden Vibrionen selbst) vorbehandelt sind, nach einiger Zeit Mengen von Vibrionen einführen, welche die tödliche Menge um das Vielfache übertreffen; der

Giftschutz ist so bedeutend, daß er durch nichtspezifische Veränderungen in der behandelten Bauchhöhle kaum zu erklären ist. Uebrigens deutet auch der sehr ansehnliche Schutz, welchen eine in der Bauchhöhle frischer Tiere erzeugte Leukocytose gegen sehr hohe Mengen von vermehrungsunfähigen Vibrionen gewährt, auf das Bestehen sehr wirksamer Entgiftungsvorrichtungen im normalen Tiere hin.

Aber das Serum von Meerschweinchen, die mit unglaublich großen Mengen von lebenden Vibrionen lange Zeit vorbehandelt sind, enthält nur Bakteriolyse usw. und überdies bestenfalls Antitoxine gegen das Lösungsgift, vermag aber gegen wenig mehr als einfach tödliche Mengen geformter Vibrionen nicht mit Sicherheit und namentlich nicht unter Verhütung der charakteristischen Zeichen der Endotoxinvergiftung, wie Temperatursenkung, Mattigkeit u. dgl. zu schützen. Auch Vorbehandlung mit dem anscheinend naturgemähesten Antigen, dem Exsudate intraperitoneal infizierter Tiere, führt zu keinem brauchbaren Serum; es kam ein solches Serum zur Untersuchung, welches von einem Tiere stammte, dem im Verlaufe von etwa 3 Monaten nahezu 40 ccm frischen, von Vibrionen wimmelnden Exsudates eingespritzt worden waren: erst in großen, an sich nicht mehr beweisenden Mengen gelang damit ein dürftiger Giftschutz.

Auffallend bleibt dieses Verhalten unter allen Umständen; die lebenden Vibrionen, die man bei der zweifellos erreichbaren aktiven Giftimmunität in sehr großen Mengen anwenden kann, müssen doch notwendigerweise das unveränderte Endotoxin enthalten, Entgiftungsvorgänge müssen im Körper der behandelten Tiere stattfinden und auch einer Steigerung zugänglich gewesen sein, und doch treten Antiendotoxine im Serum nicht auf, nur eintönig Bakteriolyse, Agglutinine usw., dabei diese beim Meerschweinchen oft in gar nicht besonderer Stärke. Es sieht aus, als ob dem Leibesgift der Halbparasiten jeder antigene Charakter fehlen würde, abgesehen von den dürftigen Zeichen davon, die sich in der Entwicklung aktiver Giftimmunität äußern.

Unter solchen Umständen ist die Aufgabe des Untersuchers naturgemäß eine sehr schwere: der natürliche Weg, brauchbare Gegenstoffe auf vorsichtige Einverleibung der Gifte

entstehen zu lassen, hat bisher nicht zum Ziele geführt. Will man nicht zu dem Schlusse kommen, daß Gegenstoffe gegen Endotoxine unmöglich sind, und damit das Arbeiten an einer antitoxischen Behandlung der Cholera überhaupt aufgeben, so bleibt nur der Versuch übrig, den Endotoxinen künstlich mehr Antigenität zu geben, als sie von Natur aus besitzen, ein Unterfangen, dessen Gelingen zweifelhaft, dessen Schwere aber von vornherein erkennbar ist.

Richtung hierfür könnte eine Untersuchung der natürlichen Vibrionenentgiftung im unvorbehandelten Tiere geben. In erster Reihe ist die Wirkung der farblosen Blutkörperchen zu erwähnen, für deren Bedeutung der hohe Schutz spricht, den jede vorhergehende Entzündung in der Meerschweinchenbauchhöhle gewährt. Ueber dessen genauere Untersuchung in bezug auf die Beeinflussung des Vibrionenleibesgiftes wird in einer späteren Versuchsreihe berichtet werden, nachdem die Wirkung von Leukocyten auf das Lösungsgift im wesentlichen festgestellt ist.

Hier soll nur noch darauf hingewiesen werden, daß auch das normale Serum verschiedener Tiere, wenn es in größeren Mengen Anwendung findet, einen ausgesprochenen Giftschutz gegen Leibesgift erkennen läßt. Diese Wirkung wurde erkannt, als Versuche angestellt wurden, den *Vibrio Kadikjöji* außerhalb des Tierkörpers unter Anwendung des antitoxischen Schafserums III zu entgiften.

Als Vorbemerkung muß vorausgeschickt werden, daß Aufschwemmungen von Vibrionen, welche nicht frisch von der Agarkultur weg, sondern nach vorheriger Agglutination mit geringen Mengen bakteriziden Immunserums und Waschung mit Kochsalzlösung eingespritzt werden, deutlich an Giftigkeit verlieren. Im allgemeinen war, statt etwa $\frac{1}{6}$ Agarkultur, jetzt $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ davon innerhalb 12—20 Stunden tödlich.

Es wurden 3 Agarkulturen in 3 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und zu je 0,45 ccm mit Zusatz von je 0,01 ccm Wiener Immunserums verteilt:

- 1) 0,45 ccm + 1,5 ccm NaCl-Lösung, $\frac{1}{6}$ Stunde 37°, zentrifugiert, gewaschen, Satz in 1,8 ccm NaCl-Lösung + 0,2 ccm Normalschafserum.
- 2) Genau wie 1), aber Satz in 1,8 ccm NaCl-Lösung + 0,2 ccm Serum III.
- 3) 0,45 ccm + 1,5 ccm Normalschafserum, $\frac{1}{6}$ Stunde 37°, zentrifugiert, gewaschen, Satz in 1,8 ccm NaCl-Lösung + 0,2 ccm Normalschafserum.
- 4) Genau wie 3), aber Satz in 1,8 ccm NaCl-Lösung + 0,2 ccm Serum III.

5) 0,45 ccm + 1,5 ccm Serum III, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, gewaschen. Satz in 1,8 ccm NaCl-Lösung + 0,2 ccm Normalschafserum.

6) Genau wie 5), aber Satz mit 1,8 ccm NaCl-Lösung + 0,2 ccm Serum III.

Meerschw. 931 mit Probe 1 ip.: 36,0, 32,5, 29,5°, Tod nach etwa 8 Stunden, zellfrei, steril.
 „ 932 „ „ 2 „ 38,7, 35,2, 30,7°, Tod nach fast 8 Stunden, zellfrei, steril.
 „ 933 „ „ 3 „ 37,8, 36,5, 34,6, 34,2, 34,3°, überlebt ohne Schaden.
 „ 934 „ „ 4 „ 36,1, 36,8, 35,2, 34,6, 34,4°, überlebt nach Krankheit.
 „ 935 „ „ 5 „ 39,3, 33,2, 29,5°, Tod nach $7\frac{1}{2}$ Stunden, zellfrei, steril.
 „ 936 „ „ 6 „ 37,3, 35,1, 33,7, 31,0, 29,0°, Tod nach 11 Stunden, steril.

Es war ganz klar, daß Serum III weder bei gleichzeitiger Einspritzung mit 0,2 ccm schützen, noch in der Menge von 1,5 ccm außerhalb des Tieres die Vibrionen entgiften konnte.

Das verwendete normale Schafserum aber, welches, wie Meerschw. 931 zeigt, in der Menge von 0,2 ccm gleichzeitig mit Vibrionen eingespritzt, keine Spur von Schutzwirkung zeigte, hatte mit 1,5 ccm außerhalb des Tierkörpers die Vibrionen derart verändert, daß sie nun nicht mehr zu töten vermochten. Nur an der Temperatursenkung und bei dem einen Tier auch äußerlich war noch ein Rest von Giftwirkung zu erkennen. Dieses Ergebnis wiederholte sich sogleich beim nächsten Versuche, der überdies den Zweck hatte, eine etwa entgiftende Wirkung bakteriziden Immunserums festzustellen.

Mittels einer Aufschwemmung von je 1 Agarkultur in 1 ccm NaCl-Lösung wurden angesetzt:

- 1) 0,35 ccm + 1,6 ccm NaCl-Lösung.
- 2) 0,35 ccm + 1,5 ccm NaCl-Lösung + 0,15 ccm Wiener Immunserum.
- 3) 0,35 ccm + 1,5 ccm Normalschafserum.
- 4) 0,35 ccm + 1,5 ccm Normalschafserum + 0,15 ccm Wiener Immunserum.
- 5) 0,35 ccm + 1,5 ccm Serum III.
- 6) 0,35 ccm + 1,5 ccm Serum III + 0,15 ccm Wiener Immunserum.

Die Proben wurden nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° zentrifugiert, die Sätze in je 2 ccm NaCl-Lösung mit je 0,01 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.

Meerschw. 937 mit Probe 1: 36,8, 35,4°, Tod nach etwas über 4 Stunden, zellfrei, steril.
 „ 938 „ „ 2: 35,9, 34,0, 28,8°, Tod nach $6\frac{1}{2}$ Stunden, zellfrei, steril.
 „ 939 „ „ 3: 39,2, 37,9, 33,7 (zeigt trotz dieser niederen Temperatur nicht viel von Krankheit), 32,8, 34,9°, überlebt.

Meerschw. 940 mit Probe 4: 38,1, 34,8, 33,2, 31,7, 35,0°, am anderen Tage ganz munter.
 „ 941 „ „ 5: 37,5, 35,8, 31,0, 30,2, 29,0°, Tod nach 10 Stunden, steril.
 „ 942 „ „ 6: 37,8, 35,9, 32,2, 31,3°, Tod nach 9 Stunden, steril.

Auch hier sind nur wieder die beiden Tiere mit Normalserum zwar nicht gegen starken Temperaturabfall, wohl aber gegen Tod und schwere Krankheit geschützt gewesen, gleichgültig, ob bakterizides Immunserum mitgegeben wurde oder nicht. Dieses hatte sich auch allein unwirksam erwiesen und ebenso das antitoxische Serum III.

Auch beim Vergleiche eines normalen Meerschweinchen-serums mit dem eines mit sehr viel vibrionenhaltigem Exsudate immunisierten Meerschweinchens (s. oben) ließ sich zeigen, daß Entgiftung eintrat, und zwar bei beiden Seren in gleicher Weise.

Aufschwemmung von 1 Kultur in 1 ccm NaCl-Lösung, Serum 273 (immun) und normales frisch, aktiv; die Mischungen standen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° und wurden dann nach Zusatz von je 0,005 ccm Wiener Immunserum sogleich eingespritzt.

Meerschw. 958: 0,3 ccm Vibrionen + 0,75 ccm Serum 273: 37,7, 36,4, 32,5, 31,8, 32,7°, Tod in der Nacht.
 „ 959: 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm Serum 273: 37,8, 37,8, 35,8, 37,5°, munter.
 „ 960: 0,3 ccm Vibrionen + 2,5 ccm Serum 273: 39,6, 38,2, 36,0, 37,5, 38,5°, munter.
 „ 961: 0,3 ccm Vibrionen + 0,75 ccm Normalmeerschweinchen-serum: 37,4, 37,0, 34,6, 34,6, 34,0, 35,0°, überlebt.
 „ 962: 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm Normalserum: 39,5, 37,5, 34,9, 37,6, 37,6°, munter.
 „ 963: 0,3 ccm Vibrionen + 2,5 ccm Normalserum: 39,3, 38,2, 37,1, 38,7, 39,5°, munter.
 „ 964: 0,3 ccm Vibrionen ohne Serum: 38,0, 35,0, 32,4, 31,8, 32,2°, Tod nach mehr als 24 Stunden, viel Leukocyten, keine Vibrionen.

Wenn auch das Kontrolltier dieses Versuches eine ungewöhnliche Widerstandskraft gezeigt hatte, so ist doch die Entgiftung durch Normalserum sehr gut zu erkennen und tritt bereits bei Verwendung von $\frac{3}{4}$ ccm Serum ein.

Der folgende Versuch gibt weitere Aufschlüsse.

Von einer Aufschwemmung von je 1 Kultur in 1 ccm NaCl-Lösung werden angesetzt:

- 1) 0,35 ccm Vibrionen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 2 ccm Normalmeerschweinchen-serum $\frac{1}{2}$ Stunde 56°.
- 2) 0,35 ccm Vibrionen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 2 ccm Normalmeerschweinchen-serum aktiv.

- 3) 0,35 ccm Vibrionen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 2 ccm Normalmeerschweinchenserum aktiv.
- 4) 0,35 ccm Vibrionen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 2 ccm NaCl-Lösung.

Nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte bei 37° werden alle Proben zentrifugiert, die Sätze von 1) und 2) werden in je 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt, der Abguß von 2) für sich eingespritzt; der Satz von 3) wird in dem Abgusse neuerlich verteilt.

Meerschw. 965 mit Satz von 1: 32,5, 30,2, unter 30°, Tod nach $6\frac{1}{2}$ Stunden, zellfrei, steril.

- | | | | | | |
|---|-----|-----|-------------|--------------------------|--|
| " | 966 | " | " | " | 2: 35,2, 36,0, 33,2, 33,6, 35,5°, überlebt. |
| " | 967 | mit | Abguß | der Probe 2: | 36,5, 37,1, 37,9, 38,1, 39,5°, munter. |
| " | 968 | mit | Satz von 3) | in Abguß 3: | 34,9, 36,5, 34,8, 34,5, 36,8°, munter. |
| " | 969 | " | " | 4) in 2 ccm NaCl-Lösung: | 35,1, 34,0, unter 30°, Tod nach 7 Stunden, zellfrei, steril. |

Die giftzerstörende Wirkung des Meerschweinchenserums wird somit durch Erwärmen auf 56° vollständig aufgehoben; weiter ist zu ersehen, daß durch die Entgiftung der Vibrionen das Serum selbst keine giftigen Eigenschaften erlangt; die Beeinflussung des Tieres 967 ist so gering, daß man schwerlich ein Ausziehen von Giftstoffen als Ursache der Entgiftung annehmen kann. Es liegt vorläufig näher, eine Umwandlung des Leibesgiftes durch das aktive Serum in eine weniger giftige Form anzunehmen, welche zwar nicht eine starke Wärmeherabsetzung, wohl aber den Tod zu verhindern vermag.

Aehnlich verhalten sich die Seren anderer Tiere.

Die Proben werden mit Aufschwemmungen von je 1 Kultur in 1 ccm NaCl-Lösung angesetzt, nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte bei 37° zentrifugiert, die Sätze in je 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und mit je 0,005 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.

- 1) 0,35 ccm Vibrionen + 3 ccm Pferdeserum aktiv; Meerschw. 979: 36,4, 38,0, 36,3, 37,6, 39,2°, munter.
- 2) 0,35 ccm Vibrionen + 3 ccm Pferdeserum $\frac{1}{2}$ Stunde 56°; Meerschw. 980: 36,6, 34,0, 31,6, 30,3, unter 30°, Tod nach 10 Stunden.
- 3) 0,35 ccm Vibrionen + 2,7 ccm Pferdeserum aktiv + 0,3 ccm Wiener Immunserum; Meerschw. 981: 36,8, 36,6, 37,1, 37,7, 39,2°, munter.
- 4) 0,35 ccm Vibrionen + 2,7 ccm Pferdeserum $\frac{1}{2}$ Stunde 56° + 0,3 ccm Wiener Immunserum; Meerschw. 982: 36,4, 33,8, 31,0, unter 30°, Tod nach 9 Stunden.
- 5) 0,35 ccm Vibrionen + 3 ccm Rinderserum aktiv; Meerschw. 983: 38,3, 38,4, 36,5, 37,7, 39,2°, munter.
- 6) 0,35 ccm Vibrionen + 3 ccm Rinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde 56°; Meerschw. 984: 36,7, 33,8, 32,8°, Tod nach 8 Stunden.
- 7) 0,35 ccm Vibrionen + 2,7 ccm Rinderserum aktiv + 0,3 ccm Wiener Immunserum; Meerschw. 985: 38,0, 36,8, 34,1, 37,5, 38,5°, munter.

- 8) 0,35 ccm Vibrionen + 2,7 ccm Rinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde 56° + 0,3 ccm Wiener Immunserum; Meerschw. 986: 37,7, 36,1, 33,9, 34,8, 34,4°, schwer krank, auch noch nach 24 Stunden mit 35,2°, überlebt schließlich.
- 9) 0,35 ccm Vibrionen + 2,7 ccm NaCl-Lösung + 0,3 ccm Wiener Immunserum; Meerschw. 987: 37,3, 34,3, 32,9, 32,1, 32,0, Tod nach 12 bis 20 Stunden.
- 10) 0,35 ccm Vibrionen + 3 ccm NaCl-Lösung; Meerschw. 988: 38,1, 34,8, 33,6, 32,4, 32,6°, schwer krank, auch noch nach 24 Stunden 34,3°, überlebt.

Der Versuch, bei dem gerade nur die sehr knapp tödliche Vibrionenmenge verwendet wurde, so daß sogar ein Kontrolltier nach langer Krankheit sich erholen konnte, zeigt aufs deutlichste einerseits die entgiftende Wirkung frischen Pferde- und Rinderserums, andererseits die Aufhebung dieser Wirkung durch Erwärmung auf 56°. Weiter ist aber noch zu ersehen, daß der Zusatz von bakterizidem Immunserum, selbst in großen Mengen, so gut wie ohne jeden Einfluß auf die Vibrionenentgiftung ist.

Die Proben werden mit Aufschwemmungen von je 1 Kultur in 1 ccm NaCl-Lösung angesetzt, nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° zentrifugiert, die Sätze in je 2 ccm NaCl-Lösung wieder aufgeschwemmt und mit je 0,008 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.

- 1) 0,35 ccm Vibrionen + 0,25 ccm Wiener Immunserum + 0,5 ccm Pferdeserum aktiv; Meerschw. 989: 36,8, 33,1, 32,2, 32,6, 33,5°, nach schwerer Krankheit erholt.
- 2) Wie 1) mit 0,25 ccm inaktivem Pferdeserum statt des Wiener Immunserums; Meerschw. 990: 36,4, 32,1, 31,5, 30,7, 30,5°, Tod nach 10 Stunden.
- 3) 0,35 ccm Vibrionen + 0,25 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm Pferdeserum aktiv; Meerschw. 991: 37,5, 36,3, 36,1, 38,0, 38,4°, munter.
- 4) Wie 3) mit 0,25 ccm inaktivem Pferdeserum statt des Immunserums; Meerschw. 992: 37,3, 35,4, 34,0, 35,5, 36,0°, ohne sichtbare Krankheit.
- 5) 0,35 ccm Vibrionen + 0,25 ccm Wiener Immunserum + 3 ccm Pferdeserum aktiv; Meerschw. 993: 36,6, 36,0, 34,3, 34,2, 34,0°, ohne sichtbare Krankheit.
- 6) Wie 5) mit 0,25 ccm inaktivem Pferdeserum statt des Immunserums; Meerschw. 994: 37,6, 37,0, 35,1, 36,5, 37,4°, munter.
- 7) 0,35 ccm Vibrionen + 0,25 ccm inaktives Pferdeserum + 3 ccm „erschöpft“ Pferdeserum; Meerschw. 995: 34,6, 35,0, 33,6, 32,0, 32,7°, Tod nach 40 Stunden, viel Zellen, steril.
- 8) 0,35 ccm Vibrionen + 0,25 ccm Wiener Immunserum + 3 ccm NaCl-Lösung; Meerschw. 996: 35,4, 33,7, 33,1, 32,8, 33,0°, Tod nach 10 Stunden.

Das „erschöpfte“ Serum der Probe 7) war so hergestellt, daß am Vorabend des Versuches 1 Kultur in 4 ccm aktiven Pferdeserums aufgeschwemmt, $\frac{3}{4}$ Stunde bei Zimmertemperatur, dann über Nacht im Eisschrank gehalten und dann klar zentrifugiert worden war.

Der Versuch gibt zunächst Aufschluß über die geringste Menge Pferdeserum, welche die angewendete Vibrionenmenge zu entgiften vermag; sie dürfte bei etwa 1 ccm liegen; der Zusatz von Immunserum hat auch hier keinen sicheren verbessernden Erfolg gehabt. Es überlebte zwar Meerschw. 989 mit Pferde- und Immunserum, während 990 ohne Immunserum starb, auch zeigte Meerschw. 991 mit Immunserum etwas weniger Wärmesenkung als 992 ohne solches. Aber einerseits war auch Meerschw. 989 schwerst krank geworden, und andererseits verhielt sich bei den Tieren 993 und 994 der Krankheitsverlauf gerade umgekehrt, so daß man wohl kaum ein Recht hat, einen besonderen Einfluß des Immunserums anzunehmen. Von großem Interesse ist der Versuch mit Meerschw. 995, welcher zeigt, daß eine vorangehende Behandlung von aktivem Serum mit Vibrionen dessen entgiftende Wirkung gänzlich aufhebt. Er wird durch die folgende Versuchsreihe im gleichen Sinne ergänzt.

Es wird 1 Kultur Kadikjöji in 1,2 ccm aktivem Pferdeserum aufgeschwemmt und sofort verdünnt: a) 0,2 ccm + 2,3 ccm, b) 0,4 ccm + 2,1 ccm, c) 0,6 ccm + 1,9 ccm frisches, aktives Pferdeserum, so daß $\frac{1}{6}$, $\frac{1}{3}$ und $\frac{2}{3}$ Kultur auf je 2,5 ccm einwirken, die Mischungen blieben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° und wurden sodann zentrifugiert, was sehr leicht vonstatten ging. Zum Versuche wurde eine Aufschwemmung von je 1 Kultur in je 1 ccm NaCl-Lösung hergestellt.

- 1) 0,35 ccm Vibrionen + 2,5 ccm Pferdeserum aktiv + 0,05 ccm Wiener Immunserum, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, gewaschen und in 2 ccm NaCl-Lösung an Meerschw. 1001: 37,4, 38,9, 37,6, 39,1°, ohne jede Krankheit geblieben.
- 2) Wie 1), mit Pferdeserum a; Meerschw. 1002: 37,3, 36,0, 32,8, 32,0°, Tod nach 23 Stunden, im Exsudate viele Zellen, mäßig zahlreiche plumpe Kurzstäbchen.
- 3) Wie 1), mit Pferdeserum b; Meerschw. 1003: 35,5, 35,8, unter 30°, Tod nach etwa 8 Stunden, fast zellfrei, steril.
- 4) Wie 1), mit Pferdeserum c; Meerschw. 1004: 36,0, 34,3°, Tod nach 5 Stunden, zellfrei, steril.
- 5) 0,35 ccm Vibrionen + 2,5 ccm NaCl-Lösung + 0,05 ccm Wiener Immunserum, sonst wie die übrigen Proben; Meerschw. 1005: 38,1, 36,8, 32,2, 31,4°, Tod nach 12 $\frac{1}{2}$ Stunden, mäßige Zahl von Zellen, steril.

Es hebt somit Vorbehandlung eines aktiven Serums mit verhältnismäßig wenigen Vibrionen die Schutzwirkung gegen Leibesgift auf.

Die Frage, ob die Zerstörung der entgiftenden Normalserumwirkung nur durch Vibrionen oder auch durch andere

Mikroorganismen herbeigeführt wird, ließ sich leicht im Sinne der Nichtspezifität beantworten.

Je 1 Kultur von Typhusbacillen und *Vibrio Kadikjöji* wurde in je 1,5 ccm frischem, aktivem Pferdeserum aufgeschwemmt und verteilt:

- a) 2,0 ccm frisches Pferdeserum + 0,05 ccm bakterizides Typhusimmunserum + 0,5 ccm Typhusaufschwemmung.
- b) 2,0 ccm frisches Pferdeserum + 0,05 ccm inaktiviertes Pferdeserum + 0,5 ccm Typhusaufschwemmung.
- c) 2,0 ccm frisches Pferdeserum + 0,05 ccm bakterizides Choleraimmunserum + 0,5 ccm Choleraaufschwemmung.
- d) 2,0 ccm frisches Pferdeserum + 0,05 ccm inaktiviertes Pferdeserum + 0,5 ccm Choleraaufschwemmung.
- e) 2,5 ccm frisches Pferdeserum + 0,05 ccm bakterizides Choleraimmunserum.
- f) 2,5 ccm frisches Pferdeserum + 0,05 ccm inaktiviertes Pferdeserum.

Nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte bei 37° wurden alle Proben klar zentrifugiert, zu den Abgüssen je 0,35 ccm einer Aufschwemmung von je 1 Kultur *Kadikjöji* in je 1 ccm NaCl-Lösung und je 0,008 ccm Wiener Immunserum zugesetzt und nach neuerlichem $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte bei 37° zentrifugiert; die Sätze wurden in je 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt.

Meersch. 1006 mit Satz a: 35,8, 31,0°, Tod nach nicht ganz 6 Stunden, zellfrei, steril.
 „ 1007 „ „ b: 36,4, 33,0, 33,4, 31,1°, Tod nach 12–18 Stunden; im Exsudate wurden wenig Zellen, keine Vibrionen, wohl aber mäßig reichlich Typhusbacillen gefunden.
 „ 1008 „ „ c: 34,8, 34,2, unter 30°, Tod nach 7 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellfrei, steril.
 „ 1009 „ „ d: 34,4, 30,5, unter 30°, Tod nach 7 Stunden, zellfrei, steril.
 „ 1010 „ „ e: 38,4, 37,1, 36,4, 37,2°, ohne Krankheit geblieben.
 „ 1011 „ „ f: 37,3, 36,1, 36,6, 36,8°, ohne Krankheit geblieben.
 „ 1012, Kontrolle mit Vibrionen in NaCl-Lösung und 0,05 ccm Choleraserum, dann wie die übrigen Proben behandelt: 35,6, 34,0, 31,0, 30,8°, Tod nach etwa 12 Stunden, wenig Zellen, steril.

Zur Herstellung des Pferdeserums a wird eine üppige, aus Preßhefe reingezüchtete Hefekultur auf Würzeagar in 2,5 ccm aktivem Pferdeserum aufgeschwemmt und nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte bei 37° wieder abzentrifugiert. Mit einer Aufschwemmung von je 1 Agarkultur in je 1 ccm NaCl-Lösung werden angelegt:

- 1) 0,35 ccm Vibrionen + 1,5 ccm Pferdeserum a + 0,05 ccm Wiener Immunserum.
- 2) 0,35 ccm Vibrionen + 1,5 ccm Pferdeserum aktiv + 0,05 ccm Wiener Immunserum.
- 3) 0,35 ccm Vibrionen + 1,5 ccm Pferdeserum $\frac{1}{2}$ Stunde 56° + 0,05 ccm Wiener Immunserum.
- 4) genau wie 3).
- 5) genau wie 3).
- 6) 0,35 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl-Lösung + 0,05 ccm Wiener Immunserum.

Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° wurden die Proben 1, 2, 3 und 6 zentrifugiert, die Sätze in je 2 ccm NaCl-Lösung mit je 0,008 ccm Wiener Immunserum aufgeschwemmt. Die Proben 4 und 5 wurden als solche unter Zusatz von 0,08 ccm Wiener Immunserum eingespritzt.

Meerschw. 1017 mit Probe 1: 34,9, 33,2, 31,3, unter 30° , Tod nach $8\frac{1}{2}$ Stunden.
 „ 1018 „ „ 2: 38,9, 37,8, 38,4, $38,8^{\circ}$, ohne Krankheit geblieben.
 „ 1019 „ „ 3: 36,0, $32,2^{\circ}$, Tod nach 5—6 Stunden.
 „ 1020 „ „ 4: 38,7, 37,1, 36,9, $37,8^{\circ}$, ohne Krankheit geblieben.
 „ 1021 „ „ 5: 36,5, 32,4, $31,1^{\circ}$, Tod nach 8 Stunden.
 „ 1022 „ „ 6: 36,4, 34,3, 30,8, $31,2^{\circ}$, lebt wider Erwarten, sehr krank noch am nächsten Tage und stirbt erst nach etwa 36 Stunden.

Die Erschöpfung der das Vibrionengift zerstörenden Serumeigenschaft kann also nicht nur durch Vibrionen, sondern auch durch Typhusbacillen oder Hefezellen herbeigeführt werden. Der Versuch mit den Tieren 1017—1022 lehrt weiter, daß die Beseitigung des Giftes wirklich auf eine Zerstörung, nicht bloß auf ein Ausziehen des wirksamen Stoffes zurückzuführen ist, da es am Ausfalle des Versuches nichts ändert, wenn das entgiftende Serum von den damit behandelten Vibrionen entfernt oder mit ihnen zugleich eingespritzt wird. Schließlich ist aus der Tatsache, daß erhitztes Serum unter allen Umständen, auch bei Miteinführung sehr großer Mengen in den Tierkörper, unwirksam bleibt, zu schließen, daß eine Ergänzung des durch Hitze herbeigeführten Verlustes im Tiere nicht möglich ist.

Ueberblickt man diese Eigentümlichkeiten, so erscheint die Entgiftung, als vermutlich allen Tierseren zukommend, als hitzeempfindlich, als durch die verschiedensten Bakterien und Mikroorganismen überhaupt aufhebbar, an das im Serum vorhandene Komplement gebunden. Dazu kommt noch, daß sie auch durch Altern des Serums rasch zurückgeht: Pferdeserum, durch 6 Tage kalt aufbewahrt, hatte in seiner Wirkung sehr merklich nachgelassen.

Diese Befunde würden aufs beste mit der von Friedberger, wie von Pfeiffer und Bessau aufgestellten Vermutung übereinstimmen, wonach eine Endotoxinbeseitigung durch Abbau unter Komplementwirkung erfolgen kann. Daß ein nur im frischen Serum enthaltener, soweit zu ermitteln, mit der Komplementwirkung übereinstimmender Anteil bei dieser Entgiftung unbedingt notwendig ist, das erweisen die

oben mitgeteilten Versuche aufs klarste. Hingegen erscheint es auffallend, daß der Einfluß künstlich zugesetzten hochwertigen Immunserums offenbar nur ein geringer ist. Auch der normale Gehalt der Seren an bakteriolytischen Immunkörpern scheint keine ausschlaggebende Rolle zu spielen, wenn man bedenkt, daß ein daran recht armes Meerschweinchen-serum ebensogut entgiftet, wie das daran sehr reiche Rinder-serum. Darüber können nur weitere Versuche Aufschluß geben. Vorläufig scheint es zweckmäßig, die entgiftende Wirkung des Normalserums als eine von der Bakteriolyse noch unabhängige, wenngleich durch sie unterstützte, Eigenschaft zu betrachten.

Da aber ihre Merkmale mit denen übereinstimmen, welche man dem Komplemente zuschreibt, und ein solches stets eines Immunkörpers bedarf, so wurde der Nachweis eines solchen auf verschiedene Weise versucht. Er ist aber bisher nicht in überzeugender Weise gelungen. Erhitztes Pferde-, Rinder- oder Meerschweinchen-serum in Mengen bis zu 3 ccm wurde durch geringe, an sich nicht schützende Mengen von aktivem Serum nicht sicher ergänzt, ebenso war das Ergebnis von Versuchen zweifelhaft, bei denen aktives Serum in der Kälte mit Vibrionen behandelt und dann mit inaktivem Serum unter Zusatz kleiner bis sehr großer Mengen bakteriziden Immunserums zusammen eingespritzt wurde. Es liegt nahe, diese entgiftenden Serumwirkungen auch für die oben mitgeteilten Versuche zur Erklärung heranzuziehen, bei welchen der Zusatz von Normalschaf- oder Meerschweinchen-serum zu großen Vibrionenmengen das Ausziehen eines hochwertigen Giftes verhindert hatte. Aber hier mahnt die Erscheinung zur Vorsicht, daß antitoxisches Serum III ebenso wie Normalserum gewirkt hatte, während es bei Leibesgift (s. Meerschw. 935 und 936) ganz und gar versagt hat. Das letztere ist durch den inaktiven Zustand, den es bei seinem Alter angenommen hatte, leicht erklärlich, zur Verhinderung der Bildung wirksamen Giftes ist es auch im inaktiven Zustande befähigt.

Es muß bemerkt werden, daß derart mit antitoxischem oder normalem Serum hergestellte Anszüge nicht vollkommen ungiftig sind; die tödliche Menge ist aber um etwa 3—4mal größer als bei gleichzeitig hergestellten Wasserauszügen.

Pfeiffer und Bessau haben in ihrer wiederholt angeführten Arbeit über Typhusendotoxine ebenfalls eine entgiftende Wirkung von Immun- und Normalseren beschrieben; sie führen dieselbe einerseits auf eine Auslaugung giftiger Leibesanteile in der Flüssigkeit an sich zurück, die auch in Kochsalzlösung erfolgt und den Auszugsflüssigkeiten giftige Eigenschaften erteilt, andererseits auf die Aufnahme von bakteriziden Immunkörpern aus dem Serum. Daß in den mitgeteilten Versuchen ein ganz anderer Vorgang dargestellt ist, wird am deutlichsten durch die Tatsache der Zerstörung der giftwidrigen Serumwirkung durch Erhitzen bewiesen, während Pfeiffer und Bessau teils mit älteren, also voraussichtlich inaktiven Seren arbeiteten, teils diese vor dem Versuche inaktivierten (Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 56, Tabelle auf p. 384). Der Erscheinung, daß bei längerem Aufenthalte von Vibrionen von der Oberfläche von Agarkulturen in Flüssigkeiten, Zentrifugieren und Waschen eine Giftverminderung eintritt, ist bereits oben Erwähnung getan und insofern Rechnung getragen worden, als die Menge von 0,35 Kultur zu den Versuchen verwendet wurde, während von nicht gewachsenen Bakterien $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{4}$ Kultur genügen würde. Charakteristisch ist ja auch, daß in den eigenen Versuchen das antitoxische Schafserum keinen entgiftenden Erfolg hatte, der dem aktiven Normalserum zukam.

Zusammenfassung.

Mit wässrigen Auszügen des *Vibrio Kadikjöi* läßt sich ein antitoxisch wirkendes Serum herstellen, dessen Wirkung genau dem Gesetze des Vielfachen gehorcht. Sie tritt am besten hervor, wenn Gift und Gegengift vor der Einführung in den Tierkörper im Glase aufeinander einwirken können. Dabei läßt sich eine Art von „umgekehrtem Danyszphänomen“ beobachten, indem eine Serummengde, welche eine bestimmte Giftmenge glatt bei einmaligem Zusatze aufhebt, dies nicht zu tun vermag, wenn die gleiche Giftmenge in mehreren Absätzen zugefügt wird.

Die antitoxische Wirkung des Serums wird verhältnismäßig gut durch Gift selbst, nur schwer aber durch Vibrionenleiber aufgehoben. Die Menge von Vibrionen, welche man dazu benötigt, entspricht jener, welche beim Ausziehen des

Giftes mit Wasser so viel Gift liefern würde, als das Serum zu binden vermag.

Durch Erwärmen auf etwa 60° verlieren sowohl Giftauszüge, als auch geformte Vibrionen sehr viel von ihrer ursprünglichen Giftigkeit. Doch ist das Arbeiten mit den so erhaltenen Giftmodifikationen wegen deren sehr großer Unverläßlichkeit im Tierversuche aufs äußerste erschwert.

Erhitzte Giftauszüge büßen nicht nur an Wirkung auf den Tierkörper, sondern wahrscheinlich auch in gleichem Grade an Bindungskraft für antitoxisches Serum ein.

Immerhin ist man noch imstande, damit bei Tieren aktive Giftimmunität zu erzeugen.

Der Schutz, den antitoxisches Serum gegen lebende, durch Zusatz bakteriziden Serums vermehrungsunfähige Vibrionen verleiht, läßt sich zwar bei Verwendung eben tödlicher Mengen regelmäßig nachweisen, ist aber sehr unvollkommen, da er Krankheitserscheinungen, oft bedrohlichster Art, nicht verhindert und gegen auch nur mäßige Erhöhung der angewendeten Vibrionenmenge nicht mehr aufzukommen vermag.

Die Herstellung antitoxischer, hochwertiger Seren genügt somit zur Beseitigung der Vergiftung durch Vibrionenleiber nicht, womit in Uebereinstimmung mit der Schule R. Pfeiffers ausgedrückt wird, daß die vom *Vibrio Kadikjöji* gewonnenen Gifte noch nicht das wahre Leibesgift darstellen. Dieses kann aber durch Normalserum verschiedener Tierarten, wenn dasselbe in größerer Menge zur Anwendung kommt, leicht entgiftet werden. Zusatz von bakterizidem Immunserum verstärkt die Entgiftung nicht wesentlich. Sie geht durch Altern des Serums langsam, durch Erhitzen sofort verloren und wird durch Behandlung mit Vibrionen selbst, wie mit fremden Mikroorganismen aufgehoben.

Die Erscheinung, daß Zusatz von Serum beim Ausziehen großer Vibrionenmengen die Gewinnung hochwertiger Gifte verhindert, ist wahrscheinlich anders als durch die erwähnte entgiftende Wirkung der Seren zu erklären.

Nachdruck verboten.

[Aus des Verfassers Laboratorium.]

Ueber die Reaktion des kolloidalen Goldes mit normalen und pathologischen Flüssigkeiten.

Von Dr. Ludwig Neufeld in Posen.

Mit 4 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. Dezember 1916.)

Die kolloidale Form der Schwermetalle ist schon seit längerer Zeit, speziell seit den Veröffentlichungen von Bredig von Interesse für die biologische Forschung. In seiner Studie „Anorganische Fermente“ zeigt uns Bredig die nahe Verwandtschaft, welche zwischen der katalytischen Wirkung der kolloidalen Schwermetalle und den organischen Fermenten besteht. Bredig zeigt durch diese Studie, daß beider Wirksamkeit durch Kontaktwirkung zu erklären ist. Kolloidales Gold und Platin besitzen noch in unendlichen Verdünnungen die Fähigkeit, die H_2O_2 -Zersetzung zu beschleunigen. Kolloidale Metalle sowohl wie auch Fermente sind abhängig in ihrer Wirksamkeit von ihrem Lösungsmittel. Eine weitere Analogie zwischen beiden besteht darin, daß beider Wirksamkeit sowohl durch Erhitzen als auch durch Gifte und zwar durch die gleichen Gifte geschädigt wird.

So sind nach Bredig die Metallsole in vieler Beziehung die Modelle der organischen Enzyme.

Eine weitere Beziehung zwischen Metallsolen und Fermenten wurde von Ascoli und Izar aufgedeckt. Dieselben fanden, daß die Leberautolyse in Gegenwart von kolloidalem Gold, Silber und Platin beschleunigt wird, indem sie die Wirkung des Fermentes, welches die Autolyse bewirkt, erhöhen.

Aehnliche Beobachtungen machten Foà und Aggazzotti. Dieselben stellten fest, daß einige kolloidale Metalle fähig sind, einige Substanzen katalytisch zu oxydieren und die Wirkung der Oxydasen zu erhöhen.

Ein besonderes Interesse gewannen die kolloidalen Metalle durch die Entdeckung von Zsigmondy. Dieser wies nach, daß das Goldsol, welches bekanntlich durch Elektrolyte gefällt wird, durch andere Kolloide gegen diese Wirkung geschützt wird und daß die Schutzwirkung der Schutzkolloide, quantitativ gemessen, eine spezifische ist, so daß sie zur Differenzierung von Eiweißkörpern geeignet ist. Diese Eigenschaft der Kolloide wurde von Zsigmondy Goldschutz genannt. Er definiert den Goldschutz in folgender Weise: diejenige Anzahl von Milligrammen Kolloid, welche eben nicht mehr ausreicht, um 10 ccm einer gut bereiteten, hochroten Goldlösung vor dem nach Zusatz von 1 ccm 10-proz. Chlornatrium-

lösung eintretenden Farbumschlag nach Violett oder dessen Nuancen zu bewahren, wird als Goldzahl bezeichnet.

Mit dieser Methode konnte Zsigmondy erhebliche Unterschiede in der Goldzahl einiger Handelskolloide sowohl als auch bei den durch fraktionierte Fällung des Eierklars sich ergebenden Fraktionen feststellen.

Die erste Studie über die Metallsol als physiologisches Reagens rührt von Axenfeld her. Derselbe stellte fest, daß man in derselben Weise wie das kolloidale Gold auch andere Metallsol zur Differenzierung von Eiweißkörpern benutzen kann. Bringt man Körperflüssigkeiten verschiedenen Ursprunges mit Metallsolen zusammen, so lassen dieselben das Metallsol entweder unverändert, oder sie flocken es aus. Diejenigen Kolloide, welche das Sol ausflocken, sind von entgegengesetzter elektrischer Ladung, diejenigen, welche Schutz geben, von gleicher. Als Reagens verwendet Axenfeld Kollargol Heyden in wässriger Lösung von 1:15 000. 15 ccm dieser Flüssigkeit werden beschickt mit der zu untersuchenden Substanz, nämlich Blut, Galle, Harn, Gewebstücke und Gewebsextrakte.

Galle übt eine schützende Wirkung aus. Blut (direkt aus dem Gefäß entnommen) wirkt stark fällend. Serum wirkt entgegengesetzt schutzgebend. Hämoglobinlösung und Aetherextrakte des Blutstromas wirken stark fällend. Arteriell Blut wirkt stärker fällend als venöses, Blut von Kranken (Febris malarica, Staphylococcaemia) ist stark abgeschwächt in seiner präzipitierenden Wirkung.

2 ccm frischen Harnes wirken fällend, desgleichen Muskelsubstanz, Pepsin und Trypsin.

Von besonderem Interesse dürfte die Untersuchung des Nervensystems sein. Die zwei funktionell voneinander verschiedenen Substanzen desselben, die zentrifugal und die zentripetal leitende, können vermittle des Kollargols voneinander geschieden werden, indem die erstere eine geringere schützende Kraft ausübt als die letztere.

Diese Beobachtungen von Axenfeld sind von Breccia des weiteren auf Untersuchungen pathologischer Zustände übertragen worden. Die Beobachtung von Axenfeld, daß die fällende Wirkung des Blutes auf Kollargol bei fieberhaften Erkrankungen abnimmt, wird von Breccia bestätigt.

Bei der Untersuchung von Ergüssen verschiedener Herkunft fand Breccia, daß entzündliche Exsudate ebenso wie das Blutserum antizipierend wirken, während Transsudate per stasin fällen. Die Reaktion wird durch den Aufenthalt im Brutschrank beschleunigt und durch Erhitzen wenig beeinflusst. Die Ergüsse entzündlichen Ursprunges wirken alle schützend, indem sie nachfolgend zugegebene präzipitierende Substanzen zu paralysieren vermögen. Nach Breccia verhalten sich schutzgebend: pleuritische und peritonitische Ergüsse, Cerebrospinalflüssigkeit bei Meningitis, Entzündungsergüsse der Gelenke und der Inhalt der Hydrocele. Im Gegensatz hierzu geben alle Ergüsse per stasin Präzipitation des Kollargols, am stärksten Ergüsse bei Ascites infolge Cirrhose, weniger wirksam sind die Transsudate Herzkranker.

Durch C. Lange ist das kolloidale Gold in die Serologie eingeführt worden. Lange ging bei seinem ersten Versuche zuerst von dem Gedanken aus, durch den Goldschutz nach Zsigmondy resp. durch die Goldzahl einen Unterschied zwischen syphilitischen und normalen Blutseren zu suchen. Dieser Versuch hatte keinen Erfolg.

Der Goldschutz, den syphilitische und normale Seren geben, ist nicht hinreichend differenziert, um zu Unterschieden zu gelangen. Bei Verdünnung der Sera mit 0,4-proz. Kochsalzlösung zeigte sich, daß Blutsera Syphilitischer sowohl wie Normaler das Gold auszuflocken vermögen. Ein Unterschied zwischen Normalem und Kranken wurde aber auch hierdurch nicht gefunden. Die Kochsalzlösung wurde in einer Verdünnung von 4 Prom. gewählt, weil destilliertes Wasser die Ausflockung nicht zustande kommen läßt, andererseits in einer 0,4-proz. Lösung die Globuline noch in Lösung bleiben, während physiologische Kochsalzlösung bereits unter Umständen Gold ausflockt. Das Ausflockungsoptimum liegt beim menschlichen Blutserum bei einer Verdünnung von 1:1500.

Sehr viel bemerkenswertere Resultate hatte C. Lange bei der Untersuchung des Liquor cerebrospinalis zu verzeichnen. Er konnte feststellen, daß normaler Liquor in toto und in progressiven Verdünnungen das Gold unverändert läßt, während pathologischer Liquor das Gold in progressiven Verdünnungen spezifisch ausfällt.

Der Modus der Reaktion ist folgender: Man mischt 0,2 ccm Liquor mit 1,8 ccm 0,4-proz. Kochsalzlösung in einem Reagenzglase und stellt weitere 11 Gläser in ein Gestell mit je 1 ccm derselben Kochsalzlösung. Indem man den überschüssigen einen Kubikzentimeter der 10-proz. Liquorverdünnung von einem Röhrchen immer zum nächsten wandern läßt, erhält man Liquorverdünnungen derart, daß jedes fortlaufende Röhrchen die Hälfte des vorangehenden enthält, so daß man bei 12 Röhrchen der Versuchsanordnung von 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 bis zu 1:10 240, 1:20 480 gelangt. Zu jeder dieser Liquorverdünnungen setzt man 5 ccm hochroten, klaren Goldsols. Die Herstellung des Goldes geschah nach der von Zsigmondy angegebenen Methode: 120 ccm reinsten destilliertem Wassers werden in einem Jenenser Glase erhitzt. Während des Erhitzens werden 25 ccm einer Lösung von Goldchloridwasserstoff hinzugesetzt, welche 6 g Aurum cristallis flavum in 1 Liter Wasser enthält und 3,0–3,5 g reinsten Kaliumkarbonates. Gleich nach dem Erhitzen auf 100° entfernt man die Flamme und gibt 3,5 ccm Formalin (0,3 ccm Formalin in 100 Wasser) schnell, aber portionsweise hinzu. Das Goldsol muß von satter, purpurroter Farbe und durchsichtig sein und darf auch in auffallendem Lichte keine Trübungen zeigen.

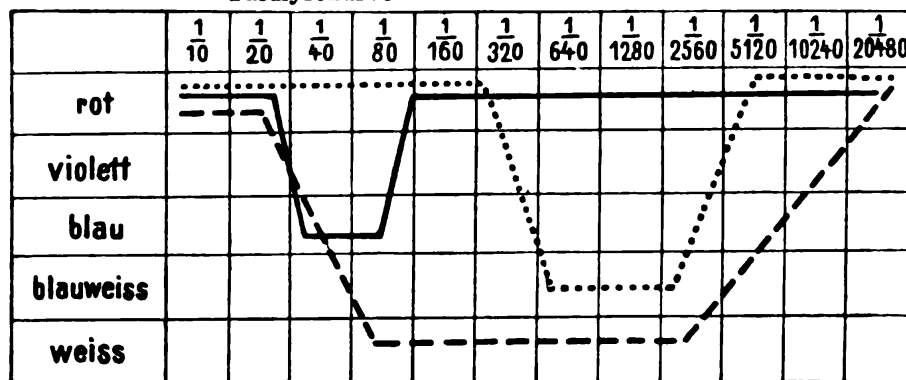
Bei Anstellung der Reaktion unter diesen Bedingungen zeigt sich nun, daß normale Liquoren das Goldsol in jeder Verdünnung unverändert

lassen, wenn ihnen kein Blut beigemischt ist. Pathologische Cerebrospinalflüssigkeiten können das Gold ausflocken, d. h. es tritt eine Farbenveränderung des Sols ein von Purpurrot über Rotblau, Blaurot, Lila, Hellblau, Weißblau, bis zur völligen Entfärbung. Hervorgehoben wird der Umstand, daß die Reaktion nicht bei der stärksten Konzentration des Liquors eintritt, also nicht bei 1:10, sondern man findet ein Ausflockungsoptimum bei einer bestimmten Verdünnung. Die Reaktion läßt sich nur mit Kochsalzlösung ausführen. Bei Anstellung derselben mit destilliertem Wasser tritt keine Ausflockung ein. Die stärksten Reaktionen sieht man bei Hirnlues, Tabes und progressiver Paralyse, also bei solchen Fällen, die auch Wassermann-positiv sind. Nicht alle Fälle mit manifester oder latenter Lues geben eine Reaktion, der normale Liquor ist fast immer negativ. Der Ausfall der Reaktion läßt sich übersichtlich in Kurven darstellen.

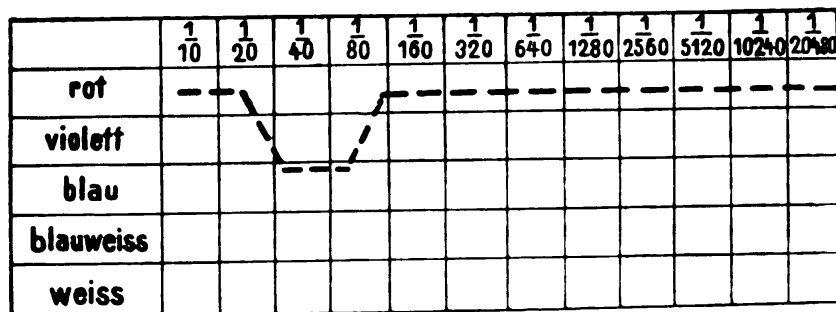
Die graphische Darstellung geschieht so, daß man auf der Abszisse die verschiedenen Verdünnungen des Liquors einzeichnet, auf der Koordinate die Skala der Verfärbung von Rot zu Weiß.

Wir geben deshalb an dieser Stelle eine Wiedergabe der von uns gefundenen Kurven, die sich im wesentlichen mit den Angaben Langes und der späteren Autoren decken.

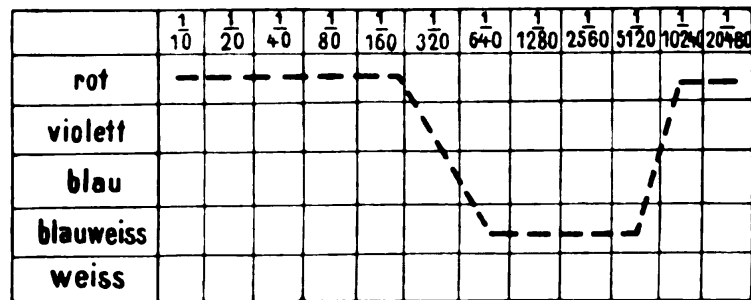
----- Blut, Galle, nephritischer Harn.
 ——— Lues II.
 - - - - Paralysekurve.



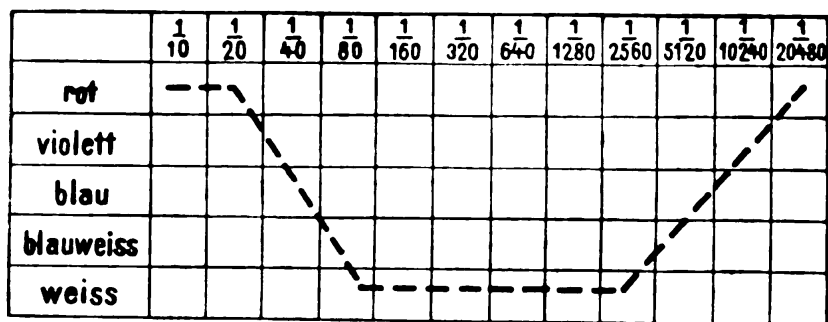
Kurve 1.



Kurve 2. Lues II.



Kurve 3. Blut, Galle, nephritischer Harn, Meningitis cerebrospinalis.



Kurve 4. Tabes, Paralyse, Hirnlues.

Durch Blutbeimengung wird die Kurve verändert, indem sowohl normale Liquoren ausflocken, als auch pathologische eine Veränderung der Kurve insofern erfahren, daß die Ausflockung erst bei höheren Graden der Verdünnung beginnt. Die Tabes und die Paralyse ebenso wie die Hirnlues zeigen eine Ausflockungskurve, die schon bei der zweiten Verdünnung einsetzt und bis zu den höchsten Graden der Verdünnung anhält. Eitrige Meningitis und Hirntumor zeigen Ausflockung erst bei höheren Verdünnungsgraden. Ebenso wie die Silberreaktion Axenfeld und Breccias ist die Langesche Reaktion thermostabil. Verdünnt man einen aktiv wirksamen Liquor tabischer Herkunft mit Alkohol im Verhältnis von 1:10, zentrifugiert, so zeigt der Alkohol Goldschutz, während im Sediment das wirksame Agens der Ausflockung verbleibt. Die Bewertung der Reaktion gibt Lange in folgendem: Wo die Wassermann-Reaktion im Liquor positiv ist, da zeigen sich auch die stärksten Reaktionen des Liquors mit Goldsol. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß die Goldsolreaktion der Wassermann-Reaktion quantitativ überlegen ist, ebenso wie die Cyto-diagnostik und Nonnes Phase I. Hingegen ist die Wassermann-Reaktion spezifisch, während Goldsolreaktion und die Resultate der Cyto-diagnostik nur bedingt spezifisch genannt werden können. Im allgemeinen geht bei Luetikern die Goldsolreaktion parallel der Phase I Nonnes.

Die Untersuchungen Langes sind von Eicke an einem sehr ausgedehnten Material fortgeführt worden. Nach Eicke beruht die Goldsolreaktion im Liquor nachweislich auf der gegenseitigen Ausflockung kolloidaler

Eiweißkörper. Es handelt sich nach Eickes Meinung um Globuline, Nukleoproteide und die höheren Eiweißspaltprodukte der Albumosen. Diese Eiweißkörper spielen eine besondere Rolle bei Wassermann-Reaktion und haben mit Ausnahme der Albumosen das Gemeinsame, daß sie in destilliertem Wasser unlöslich sind. Wenn man daher den Liquor mit Wasser verdünnt, so fallen die Globuline und Nukleoproteide aus und können daher das Gold nicht ausflocken. Das Ausflocken des Liquors in einer Verdünnung zwischen 40:80 wird von Eicke als pathognomonisch für sekundäre Lues angesprochen. Normale Liquoren geben angeblich keine Ausflockung. Zwischen der Goldsolreaktion und der Nonne-Apeltischen Reaktion besteht Parallelismus. Die Goldsolreaktion scheint nur positiv zu sein, wenn das Zentralnervensystem am Krankheitsprozeß beteiligt ist. Die von Lange angegebenen Tabes-Paralysekurve wird von Eicke bestätigt. Durch vergleichende Untersuchungen zwischen der Wassermannschen Reaktion und der Goldreaktion bei Paralytikern kommt Eicke zu dem Schluß, daß zwischen beiden Reaktionen ein Zusammenhang besteht. Eicke sagt folgendes: Bei einer typischen Paralysekurve kann man erwarten, daß die Wassermannsche Reaktion noch mit 5 Proz. Liquor Komplementablenkung zeigt. Zwischen der Goldreaktion in ihrem für Lues typischen Ausfall und der Wassermannsche Reaktion besteht in quantitativer Beziehung eine deutliche Parallelität.

Bei der Lues cerebrospinalis und bei der Tabes fand Eicke ähnliche Kurven wie bei Paralyse.

Tuberkulöse Meningitis, eitrige Meningitis und Blutbeimengung ergeben Kurven mit einer Verschiebung der Ausflockung nach rechts.

Die Herstellung des kolloidalen Goldes ist durch Eicke etwas modifiziert worden, indem die Reduktion des Goldes nicht durch Formol, sondern durch Traubenzucker erfolgt. Ein Liter frisch destillierten Wassers wird mit 10 ccm einer 1-proz. Goldchloridlösung versetzt und mit 5 ccm einer 5-proz. Traubenzuckerlösung zum Sieden erhitzt. Tropfenweises Zusetzen einer 5-proz. Pottaschelösung, bis die Reduktion eintritt.

Die von Lange und Eicke erhobenen Befunde sind von einer ganzen Reihe Autoren nachgeprüft und im wesentlichen bestätigt worden. Ich zähle hier die Namen der hauptsächlichsten Untersucher auf: De Krinis und Frank, Jäger und Goldstein, Zaloziecki, Neue, Kafka und eine Anzahl amerikanische Forscher, deren Versuchsergebnisse ich nur aus den Referaten des Journal of the Medical Association kenne.

Die auffallende Beobachtung, daß die Reaktion nicht wie die chemischen Reaktionen bei stärkster Konzentration, sondern bei einem Optimum auftritt, hat Spaeth veranlaßt, durch Untersuchungen vom biologischen Standpunkte aus eine Erklärung für dieselbe zu finden.

Spaeth kam nach Anfangsversuchen zu der Ueberzeugung, daß für den Ausfall der Reaktion der Antagonismus zwischen schützender Eiweißsubstanz einerseits und Elektrolytenwirkung andererseits nicht maßgebend sein könne. Eine Veränderung der Reaktion wurde weder durch Erhitzen noch durch Dialyse erzielt.

Er stellt sich daher vor, daß in den Liquoren eigene Stoffe mit ausflockender Eigenschaft in Wirksamkeit treten.

Diese Stoffe versuchte er aus den Liquoren zu entfernen, um mit diesen erschöpften Materien experimentieren zu können. Und zwar behandelte er zuerst den Liquor mit gewaschener Meerschweinchenleber nach dem Beispiele von Toyosumi. Dabei verschwanden die ausflockenden Reaktionskörper aus dem Liquor, die Reaktion wurde negativ. Diese in dieser Weise ausgeführten Experimente befriedigten den Autor jedoch nicht, da bei dieser Versuchsanordnung der Liquor erhebliche Mengen von Eiweiß enthält und man daran denken mußte, daß durch Goldschutz durch Eiweißkörper im Sinne Zsigmondys die Reaktion verhindert wurde. Spaeth benutzte daher bei den folgenden Versuchen gekochte Meerschweinchenleber nach dem Vorbilde Nakanos. Auch durch Digestion mit gekochter Meerschweinchenleber wurde die Reaktionsfähigkeit des Liquors aufgehoben. Diese Versuche decken sich demnach mit den Versuchen Nakanos, dem es gelang, durch Digestion mit gekochter Meerschweinchenleber den Reaktionskörper der Wassermannschen Reaktion bei Syphilis zu entfernen. Spaeth glaubt daher, den Schluß ziehen zu dürfen, daß es sich hier um den gleichen Reaktionskörper handle, der hier entfernt wird, nämlich um denluetischen Antikörper, welcher einerseits die Komplementbindung, andererseits die Goldsolreaktion verursacht.

In dieser Annahme wurde der Autor durch einen weiteren Versuch bestärkt.

Er digerierte Luesserum mit gekochter Meerschweinchenleber, zentrifugierte das Serum ab und digerierte die gut gewaschene Lebersubstanz mit Kochsalz. Die Digestionsflüssigkeit wurde zur Goldsolreaktion verwandt und ergab eine Paralysekurve. Normales Serum reagierte zwar auch stark, ergab jedoch keine typische Kurve. Die Goldsolreaktion ist also nach Spaeth eine Reaktion desluetischen Antikörpers. Für diese Annahme scheint ihm auch der von Eicke beobachtete quantitative Parallelismus der Wassermannschen Reaktion und der Goldreaktion zu sprechen.

Die Goldsolreaktion selbst bezeichnet Spaeth als eine Immunitätsreaktion oder wenigstens als ein Modell einer solchen.

Die Beobachtungen Spaeths erweckten mein Interesse und veranlaßten mich zum Studium derselben. Die Erfahrungen, die ich mit der Reaktion bezüglich ihrer klinischen Bewertung gemacht habe, decken sich mit denen Langes, während Eicke nach meinen Beobachtungen zu sehr den spezifischen Charakter der Reaktion betont. In zwei Fällen von Tabes sahen wir eine sogenannte Paralysekurve, während die Wassermannsche Reaktion negativ ausfiel.

Einen Unterschied zwischen Tabes, Paralyse einerseits und Gehirnlues andererseits haben wir ebenfalls nicht gefunden. Desgleichen sahen wir bei einigen Fällen, die keine

Anhaltspunkte für syphilitische Infektion boten, die von Eicke für Lues II als pathognomonisch erklärte Ausflockung zwischen Verdünnung 2—4 eintreten, wie ja auch Lange gelegentlich bei normalem Liquor schwache Kurven beobachtete. Eine Kurve, die sehr an die Paralysekurve erinnert, sahen wir bei Meningitis tuberculosa, während wir bei Meningitis purulenta die geschilderte Verlagerung der Kurve nach rechts eintreten sahen.

Durch Blutbeimengung kann normaler Liquor ausflocken. Diese Kurve ist ebenfalls erst in den höheren Verdünnungen entwickelt. In einem Falle von inzipienter Tabes war bereits eine typische Kurve zu sehen, und half diese mit, die Diagnose zu stellen. Wenn die Goldsolreaktion also auch nicht absolut spezifisch ist, so weist sie doch in sehr prägnanter Weise auf eine Affektion des Zentralnervensystems hin, und sie sollte daher in keinem Falle, in dem der Liquor punktiert wird, unterlassen werden. Speziell in Verbindung mit der Weil-Kafkaschen Hämolysinreaktion gibt sie wertvolle Anhaltspunkte für die Diagnose. Es dürfte ihr auch forensische Bedeutung zukommen, da infolge der außerordentlichen Feinheit der Reaktion der negative Ausfall derselben wohl mit Sicherheit eine organische Erkrankung des Zentralnervensystems ausschließen läßt.

Fassen wir das bisher Gegebene kurz zusammen, so finden wir, daß sich im Liquor speziell bei syphilitischen Erkrankungen des Zentralnervensystems eine Substanz findet, welche hochgradig katalytisch auf kolloidales Gold wirkt. Das Wunderbare ist nun, daß diese Reaktion, wie wir es doch eigentlich bei einer Reaktion mit einer chemischen Substanz erwarten könnten, nicht bei der stärksten Konzentration eintritt, sondern daß sie, wie die Immunitätsreaktionen, ein Optimum hat. Nachdem wir nun dieselben klinischen Erfahrungen gesammelt hatten, wie die anderen Autoren, wandten wir uns dem biologischen Studium der Reaktion zu. Die Technik der Reaktion ist bereits angegeben.

Bei der Herstellung kolloidalen Goldes hatten wir ebenso wie andere Untersucher Schwierigkeiten. Es mißlang uns häufig, brauchbare Lösungen nach der Eickeschen Methode zu gewinnen. Ich bin in der Lage, eine Methode anzugeben,

bei der uns die Herstellung brauchbarer Lösungen so gut wie immer gelang.

Man mischt in einem Kölbchen 50 ccm frisch destillierten Wassers mit 1 g Aurum cristallisatum flavum und 2,5 g Kalium carbonicum. Diese Lösung ist haltbar und kann aufbewahrt werden. In 1 l frisch destilliertem Wasser löst man 5 ccm einer 5-proz. Traubenzuckerlösung auf und erhitzt bis zum Sieden. Nachdem starkes Sieden eingetreten ist, setzt man $1\frac{1}{2}$ —2 ccm des Gold-Pottasche-Lösung hinzu und fügt nun langsam, tropfenweise weiter von dieser Lösung hinzu, bis sich der geringste Farbumschlag im Glase zeigt. Dann verlangsamt man das Tempo des Zusetzens noch mehr, bis sich die Flüssigkeit dunkelviolett färbt; in diesem Moment nimmt man den Gashahn in die Hand und dreht die Flamme ab, wenn Purpurfärbung eintritt. Man nimmt die Herstellung so vor, daß man bei Tageslicht direkt am Fenster arbeitet und bei durchfallendem Licht die Flüssigkeit genau beobachtet. Am zweckmäßigsten verwendet man Bechergläser. Jenenser Glas haben wir nicht benutzt, doch muß man das Wasser direkt nach der Destillation aufnehmen. So gelingt es bei einiger Uebung leicht, selbst große Mengen kolloidalen Goldes herzustellen. Die Lösungen sind lange Zeit brauchbar. Wir konnten feststellen, daß gut gelungene Lösungen verschieden empfindlich sind, und zwar hauptsächlich in bezug auf die Intensität des Farbumschlages und die Schnelligkeit des Eintritts der Reaktion. Besonders empfindlich sind die Lösungen, bei denen ein gelblicher Ton im Rot vorhanden ist, welche letztere auch von Lange besonders empfohlen werden. Man muß daher bei dem Ausfall der Reaktion mehr Wert auf die Verdünnungsziffern legen, da diese den guten Lösungen gemeinsam sind, während die Kurve bezüglich des Farbumschlages mit verschiedenen Lösungen innerhalb geringer Grenzen Schwankungen unterworfen ist.

Eicke bringt die Reaktion in Zusammenhang mit den Globulinen und Albumosen. Zsigmondy hat nachgewiesen, daß Globuline Goldschutz verleihen. Durch die Wirkung der Globuline ist die Reaktion daher nicht zu erklären. Das Zusammentreffen der Goldsolreaktion mit der Nonne-Apelt-schen Reaktion kann nicht in diesem Sinne als Erklärung

herangezogen werden. Etwas anders verhält es sich mit den Albumosen und Peptonen. Pepton, z. B. Seidenpepton, besitzt die Fähigkeit, Goldsol auszuflocken, aber in nur so geringem Maße, daß es zur Erklärung der Reaktion, die ich und andere Beobachter noch in Verdünnungen von 1:1000000 auftreten sahen, nicht ausreicht. Die Erklärung dieser Reaktion kann erst dadurch gefunden werden, wenn wir die Ursache dafür wissen, daß die Reaktion nicht in der stärksten Konzentration auftritt, sondern in Verdünnungen ihr Optimum hat. Einen Versuch in dieser Richtung hat ja Spaeth unternommen, eine wirkliche Erklärung für den Antagonismus zweier Substanzen ist er schuldig geblieben. Ich konnte mich auch nicht davon überzeugen, daß ein wirklicher Parallelismus zwischen der Wassermannschen Reaktion und der Goldsolreaktion besteht. Zudem ist ja das Wesen der Wassermannschen Reaktion auch noch nicht geklärt, und es ist nicht bewiesen, daß der komplementbindende Faktor des syphilitischen Serums ein Antikörper ist. Bei unseren Versuchen mit der fraktionierten Eiweißfällung kamen wir ebensowenig wie unsere Vorgänger zu Resultaten. Die nach fraktionierter Fällung und Dialyse gewonnenen Globuline geben Goldschutz, wenn man 48 Stunden nach der Angabe Friedemanns gegen fließendes Wasser dialysiert. Wir wandten uns nun bei unseren Versuchen zuerst der Untersuchung normalen Serums zu. Wir fanden hierbei, daß sich in normalem Serum die Substanz, welche auf das Goldsol katalytisch wirkt, bereits vorfindet. Die Kurve des normalen Serums ist bei allen Säugetieren, die wir untersucht haben, eine ziemlich gleiche. Das Serum besitzt die Fähigkeit, diese katalytisch wirkende Substanz in stärkerer Konzentration zu paralysieren, während andererseits diese ausflockende Substanz von ganz außerordentlicher Wirksamkeit sein muß, denn sie ist zeitweilig noch in einer Verdünnung des Serums von 1:100000 und darüber wirksam. Die Reaktion tritt also erst beim 4. bis 7. Röhrchen der Versuchsanordnung ein und hält dann 3 bis 6 Röhrchen und darüber hinaus an. Diese Kurve ist durchaus nicht festgelegt und ist bei demselben Säugetier in verschiedenen Zeiten verschieden. Eine gewisse Ausnahme macht das Serum des Meerschweinchens, das häufig schon beim 2. Röhrchen ausflockend

wirkt und dann eine Kurve aufweist, die der Paralysekurve ähnlich ist, jedoch ist dieser Befund keineswegs regelmäßig. Es findet sich also im normalen Serum eine Substanz, die bis in die stärksten Verdünnungen hinein gegen Goldsol eine katalytische Wirkung ausübt. In den stärkeren Konzentrationen des Serums muß also offenbar ein Antikörper wirksam sein, der die katalytische Wirksamkeit dieser hypothetischen Substanz hemmt. Es schien mir nicht zweifelhaft zu sein, daß der Körper, der das Gold im Serum ausflockt, derselbe sein müßte, der im Liquor die Reaktion auslöst. Da der Körper andererseits im normalen Blute vorkommt, so muß er zu den Substanzen gehören, die normalerweise dort vorhanden sind. Diese Substanz also zu finden, welche im Blute normalerweise vorkommt, und imstande ist, Gold katalytisch zu beeinflussen, mußte zunächst unsere Aufgabe sein. Unsere ersten Bemühungen waren nicht von Erfolg begleitet. In den Arbeiten der Autoren, welche sich mit der Goldsolreaktion befaßt haben, finden wir nichts über das, was bereits vordem über die Beziehung physiologischer oder pathologischer Körperflüssigkeiten zu den Metallsolen gefunden wurde. Nachdem wir mit Pepton und Cholin experimentiert hatten, ohne eine Erklärung zu finden, untersuchten wir zunächst die Wirkung sogenannter starker Elektrolyte auf das Goldsol und fanden, daß die katalytische Wirkung dieser im Blute und im Liquor vorkommende Substanz die Wirkung der Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, die des Kochsalzes, des Kupfersulfats, des Ammoniumsulfats ganz bei weitem übertrifft. Wenn wir nun eine Substanz finden, die so wirksam ist, daß sie stärker wirkt, als die stärksten wirkenden chemischen Substanzen, so dürfen wir schon ohne weiteres annehmen, daß dieser Stoff zur Gruppe derjenigen Stoffe gehört, welche wir unter dem Namen der Enzyme und Fermente zusammenfassen. Die Fragestellung wurde hierdurch schon wesentlich einfacher. Im Blutserum kommt normalerweise und im Liquor unter pathologischen Bedingungen ein Körper von fermentativer Wirkung vor, der auf Goldsol eine ähnliche Wirkung auszuüben scheint, wie die Fermente auf die Wasserstoffsuperoxyd-Zersetzung. Gegen dieses Ferment muß es im Serum und im Liquor eine Substanz geben, welche antifermentativ wirksam ist. Lange

sowohl als auch mir ist der Parallelismus der Leukocytenvermehrung im Liquor mit der Goldsolreaktion aufgefallen. Wir wandten uns nun der Untersuchung der Leukocytenfermente zu. Da zeigte sich denn, daß Eiter verschiedener Provenienz in verschiedenem Maße die Fähigkeit hat, Goldsol auszuflocken, und zwar bald stärker, bald schwächer. Darauf schien uns das Wesen der Reaktion auf einmal klar. Die Goldsolreaktion ist eine Leukocyten-Ferment-Antifermentreaktion und kommt durch den Antagonismus des Ferments und des Antiferments zustande. Wir wandten uns zunächst dem Studium des Trypsins zu. Es ist ja bekannt, daß die Leukocyten eine dem Trypsin nahestehende Protease liefern, ebenso wie das Serum antitryptische Eigenschaften besitzt. Schon Axenfeld hat, wie wir bereits anfangs erwähnten, und leider erst zu spät fanden, festgestellt, daß das Trypsin die Fähigkeit besitzt, kolloidales Silber zu fällen. Wir stellten nun mit Trypsin (käuflich) die Goldsolreaktion an und fanden, daß das Trypsin noch in Verdünnungen von 1 : 1 000 000 das Gold ausflockt, jedoch nur in Kochsalzlösungen. Im destillierten Wasser verhielt es sich unwirksam. Das Pepsin war im destillierten Wasser und in Kochsalzlösung unwirksam, jedoch von gleicher Wirksamkeit bei Verwendung von 0,1-proz. Essigsäuerlösung. Nach diesem uns überraschenden Befunde glaubten wir, daß es sich bei der Goldsolreaktion um eine Trypsin-Antitrypsin-Reaktion handeln würde. Daß dem Serum auch gegenüber dem Goldsol antithryptische Fähigkeit innewohnt, davon kann man sich leicht durch einen Versuch überzeugen. Nachdem man die Kurve eines Blutserums festgestellt hat, tut man Trypsin zu diesem Serum hinzu und untersucht nun dieses Serum sowohl als auch das Trypsin mit Goldsol. Dann findet man, daß sich die Serumkurve trotz des Trypsinzusatzes nicht verändert hat, während das Trypsin natürlich in allen Verdünnungen ausflockt. Die Frage des Vorkommens des Trypsins oder einer ihm verwandten Protease im normalen Blut gehört ja noch zu den Streitfragen. Unter pathologischen Bedingungen, speziell bei der Leukämie und experimentellen Vergiftungen mit Phosphor, und Chloroform sind eiweißabbauende Fermente im Serum nachgewiesen worden. Nach Abderhalden besitzt das Meerschweinchen-

serum nicht selten die Fähigkeit, Eiweiß allgemein abzubauen. Merkwürdigerweise liefert das Serum des Meerschweinchens auch häufig eine abweichende Kurve, indem die antifermentative Zone bei der Goldsolreaktion stark abgeschwächt erscheint. Auch dieser Befund schien dafür zu sprechen, daß die Reaktion im Blute durch ein dem Trypsin nahestehendes Ferment verursacht wurde. Wenn unsere Auffassung richtig war, so mußte die tryptische Wirkung dieses Fermentes in den durch die Goldsolreaktion gewiesenen Verdünnungen nachweisbar sein. Die Vermutung hat sich nicht als richtig erwiesen. Das Serum besitzt weder in Substanz noch in Verdünnungen tryptische Qualitäten. Die Prüfung der proteolytischen Kraft des Serums geschah mit der von Groß angegebenen Kaseinmethode, und zwar sowohl mit saurer als auch alkalischer Lösung des Kaseins. Ein Unterschied zwischen Meerschweinchen- und anderen Seren konnte trotz zahlreicher Versuche nicht festgestellt werden. Nachdem dieser Versuch, Trypsinferment als Erklärung heranzuziehen aufgegeben werden mußte, wandten wir uns der Auffassung zu, daß das Fibrinferment als ätiologischer Faktor in Betracht komme. Dieses findet sich normalerweise im Blutserum. Schon aus den Untersuchungen Langes wissen wir, daß sich aus dem Liquor durch Verdünnungen mit der neunfachen Menge absoluten Alkohols die wirksame Substanz der Ausflockung ausfällen und im Sediment nachweisen läßt. Es ist dies ja die bekannte Methode Schmidts, aus Blutserum Fibrinferment herzustellen. Es gelang uns aber, die ausflockende Substanz des Blutserums mit dem Fibrinferment noch genauer zu identifizieren. Wenn wir Blutserum dialysieren nach der Methode von Abderhalden, so geht die das Goldsol ausflockende Substanz in das Dialysat über, und zwar bald in stärkerem, bald in schwächerem Grade. Die Reaktion ist nun bereits in den ersten Röhrchen sichtbar, ein Beweis dafür, daß nur das Ferment, nicht auch das Antiferment durch die Dialysierhülle hindurchgetreten ist. Stellt man mit dem Dialysate die Gerinnungsreaktion nach Wohlgemut zum Nachweis von Thrombin an, so gerinnt das Plasma, während die Kontrollen unverändert bleiben.

Der Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt: Pferdeserum wurde mit 28-proz. Magnesiumsulfatlösung im

Verhältnis 1:3 gemischt und durch Zentrifugieren von den zelligen Bestandteilen befreit. Diese Plasmalösung wurde mit kalkfreier Kochsalzlösung im Verhältnis 1:9 gemischt, zu 2 ccm der Plasmaverdünnung 1 ccm des Dialysates hinzugefügt, worauf innerhalb 24 Stunden im Eisschrank Gerinnung eintrat, während die Kontrollen unverändert blieben. Die Hülzen wurden natürlich vorher auf ihre Durchlässigkeit auf Eiweiß geprüft, desgleichen das Dialysat zuvor mit der Biuretreaktion und der Spiegler-Papacischen Quecksilberprobe.

Ich komme nun auf die Beobachtungen Spaeths zurück. Spaeth vermutete einen Zusammenhang zwischen der Wassermannschen Reaktion und der Goldsolreaktion, weil der Reaktionskörper beider durch gekochtes Lebergewebe absorbiert wird. Diese Schlußfolgerung scheint mir nicht statthaft zu sein, denn durch Dauwe ist erwiesen, daß eine Reihe von Substanzen, wie Tierkohle, Kieselguhr, koagulierte Serum von Hühnereiweiß, Fibrin, Kasein, rohes und gekochtes Fleisch u. a. Fermente zu absorbieren vermögen. Hinzu kommt noch, daß das gekochte Lebergewebe seine fermentative Wirkung nach kurzer Zeit wiedergewinnt und auch ohne Zusatz von Serum Gold fermentativ auszuflocken vermag.

Behandeln wir eine Leber nach Hata, indem wir die feingeschabte Lebersubstanz mit 100 ccm $\frac{1}{20}$ normale Salzsäure versetzen und 10 ccm Chloroform hinzutun, das Ganze stehen lassen für 7 Tage, nachträglich mit Sodalösung neutralisieren, so gewinnen wir die sogenannten autolytischen Fermente der Leber. Auch diese besitzen die Fähigkeit, Gold intensiv und fermentativ auszuflocken. Diastatische Fermente scheinen das Gold unverändert zu lassen. Ziehen wir die Schlußfolgerung aus dem gewonnenen Ergebnis, so ergibt sich, daß das normalerweise im Blute vorkommende Fibrinferment oder Thrombin unter pathologischen Bedingungen in den Liquor cerebrospinalis übertritt. Bei den Erkrankungen der Hirnhäute wie Meningitis purulenta und Tuberkulose tritt außer dem Ferment auch Antiferment über. Daher die Verlagerung der Kurve nach rechts.

In besonders charakteristischer Weise erfolgt der Uebertritt des Fermentes in den Liquor bei den syphilitischen Erkrankungen der Meningen. Wir finden also hier ganz ähn-

liche Verhältnisse wie bei der Weil-Kafkaschen Hämolyse-reaktion. Dieselbe beruht darauf, daß im normalen Liquor weder die im Blute im allgemeinen stets vorhandenen hämolytischen Ambozeptoren gegen Hammelblut noch Komplement vorhanden sind, während bei Meningitis und Paralyse ein Uebertritt derselben aus dem Blute in den Liquor durch die krankhaft veränderten Gefäße der Meningen erfolgt.

Es scheint nun überhaupt das Fibrinferment eine besondere Rolle bei der Syphilis zu spielen, die allerdings zurzeit nach ihrem Wesen noch dunkel erscheint. So haben Klinger und Hirschfeld durch die Gerinnungsreaktion bei Lues einen Zusammenhang mit der Gerinnung des Blutes und dem Fibrinfermente gefunden. Das Blut Syphilitischer ist in bestimmter Weise imstande, die sogenannte cytogene Komponente des Thrombins zu beeinflussen.

Ebenso wiesen Klinger und Hirschfeld nach, daß der Antagonismus zwischen Globulinen und Albuminen, den Friedemann für die Wassermannsche Reaktion festgestellt hat, auch bei der Thrombinbildung beobachtet wird.

Auch wir sahen bei der Globulinfraktion, aber nur nach kurzer Dialyse gegen fließendes Wasser, die Goldsolreaktion mehrfach an die Globuline gebunden. Die Kurve zeigt jedoch, wie zu vermuten war, Goldschutz in den ersten Röhrchen. Es wird also das Ferment durch das Ammonsulfat mit den Globulinen mitgerissen.

Auch für die Anaphylaxie werden die den Blutplättchen entstammenden Thrombocyten neuerdings von v. Behring in Anspruch genommen. Es könnte also die Annahme Spaeths, daß zwischen Goldsolreaktion und Wassermann-Reaktion ein Zusammenhang besteht, sich in diesem Sinne bestätigen. In einem hat nun Spaeth meines Erachtens genau das Richtige getroffen dadurch, daß er die Goldsolreaktion als das Modell einer Immunitätsreaktion auffaßt. Der Antagonismus zwischen Thrombin und Antithrombin, den wir bei der Goldsolreaktion im Reagenzglase vor uns sehen und den wir uns auch künstlich durch Zusatz von Serum oder Eierklar zu Trypsin und Pepsin herstellen können, dürfte für die kompliziertere Form der meisten Immunitätsreaktionen als Vorbild dienen.

Die Fermente werden heute im allgemeinen noch zu den kolloidalen Eiweißkörpern gerechnet, obwohl diese Hypothese

schon mannigfach erschüttert worden ist. Was die Dialysierbarkeit der Fermente betrifft, so ist dieselbe im allgemeinen gering, besonders gering, wenn das Ferment an eine stark eiweißhaltige Flüssigkeit gebunden ist. Ein ähnliches Verhalten zeigen Toxine und Antikörper. So gelingt es beispielsweise, durch die Dialysierhülse hindurch rote Hammelblutkörperchen zu sensibilisieren, wenn man in die Außenflüssigkeit einen erheblichen Ueberschuß an Ambozeptor bringt.

Der Durchtritt des Fibrinfermentes vom Serum aus durch die Dialysierhülse findet nicht immer statt und bei gleichem Serum bei verschiedenen Proben verschieden stark. Die Durchlässigkeit der Fermente ist also von der Beschaffenheit der Dialysierhülse abhängig.

Von den verschiedenen Körperflüssigkeiten, die wir mit Gold untersuchten, möchten wir die Galle und den Harn erwähnen.

Die Galle (Rindergalle) zeigt, frisch untersucht, eine ganz ähnliche Kurve, wie das Blut.

Besonderes Interesse verdient die Untersuchung des Harns mit Goldsol.

Es ist natürlich von vornherein anzunehmen, daß eiweißhaltiger Urin Goldschutz gewährt. Wie weit mit dieser Methode Unterscheidungen klinischer Krankheitsbilder möglich sind, darüber fehlen bisher Untersuchungen. Jedenfalls ist von Zsigmondy ein Unterschied zwischen Albuminen und Globulinen in der Goldzahl festgestellt worden.

Normaler Harn fällt Goldsol, aber nur in starker Konzentration.

Dialysiert man den normalen Harn gegen fließendes Wasser, so wird die Reaktion negativ. Es dürfte daher die ausflockende Kraft normalen Harns von dem Salzgehalt desselben stammen. Eiweißhaltiger Harn gewährt Goldschutz in den ersten Röhrchen und gibt eine ähnliche Kurve wie das Blut, wahrscheinlich dadurch, daß Fibrinferment in den Harn übertritt.

Bei Nephritis ist Antitrypsin im Harn nachgewiesen worden, eine Beobachtung, für die die Harnkurve der Nephritiker ebenfalls zu sprechen scheint.

Wenn wir die Goldkurve als Hilfsmittel heranziehen, sehen wir, daß die Antifermente erstens an die Konzentration

des Eiweißes gebunden sind und daß sie zweitens viel rascher unwirksam werden als die Fermente.

Möglicherweise läßt sich auch hierdurch die Abnahme des Antitrypsingehaltes des Blutes bei hungernden Tieren und die Zunahme desselben beim Zerfall eiweißreicher Gewebe erklären.

Die ausflockende Substanz findet sich bereits im Blutplasma, es muß also schon das Proferment die Fähigkeit besitzen, kolloidales Gold zu fällen.

Zusammenfassung.

1) Das Goldsol ist ein außerordentlich feines Reagens zum Nachweis einiger Fermente (Trypsin, Pepsin, Thrombin, autolytisches Ferment).

2) Die C. Langesche Goldreaktion ist als eine Thrombin-Antithrombinreaktion aufzufassen.

3) Unter pathologischen Verhältnissen tritt Ferment und Antiferment in den Liquor cerebrospinalis und in den Harn über.

Literatur.

- Bredig, Anorganische Fermente, Leipzig 1901.
 Neilson, Interstate Medical Journal, Vol. 20, 1913, No. 1. Dasselbst genaues Literaturverzeichnis.
 Ascoli und Izar, Berl. klin. Wochenschr., 1907.
 — — Biochem. Zeitschr., 1907 und 1909.
 Foà und Aggazzotti, Biochem. Zeitschr., 1909.
 Axenfeld, Centralbl. f. Physiol., 1908.
 Breccia, Berl. klin. Wochenschr., 1910.
 Die Literaturangabe über kolloidales Gold siehe bei De Krinis und Frank, Münch. med. Wochenschr., 1914.

Außerdem:

- Neue, Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilk., 1914.
 Kafka, Dermatol. Wochenschr., Ergänzungsheft, 1914.
 Dauwe, Hofmeisters Beiträge, Bd. 6.
 Wohlgemuth, Fermentlehre, 1913.
 Klinger und Hirschfeld, Deutsche med. Wochenschr., 1914.
 — — Zeitschr. f. Immunitätsf., 1913.
 v. Behring, Deutsche med. Wochenschr., 1915.
 Spaeth, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1915.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus den Laboratorien des Schweizer. Serum- und Impfinstitutes
am Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten der Uni-
versität Bern (Direktor: Prof. Dr. W. Kolle).]

Präzipitation und Thermopräzipitation bei Vaccine.

Von

E. Tomarkin und **P. Suárez.**

Vorsteher der Vaccine-Abteilung.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. Dezember 1916.)

Das Phänomen der Präzipitation bei Vaccine ist bisher nur wenig untersucht worden, und die Meinungen hierüber sind noch immer geteilt.

Tanaka (1) war der erste, der wohl in diesem Sinne zu deutende Vorgänge beobachtet hat. Tanaka hatte versucht, im Gerinnsel eines klaren pleuritischen Exsudates den Vaccineerreger durch Einsaat von glyzerinierter Lymphe zu züchten, und machte dabei die Wahrnehmung, daß sich in der Folge um das Gerinnsel eine sehnig, weiße Masse bildete. Es ergab sich, daß der Kranke, von dem das Exsudat stammte, vor 25 Jahren die Blattern durchgemacht hatte, und da bei Benutzung von pleuritischem Exsudat anderer Patienten, welche nie an Pocken gelitten, eine solche Erscheinung nie zutage trat, so kam Tanaka zu dem Schlusse, daß die von ihm beobachtete eigentümliche Erscheinung als spezifisch, durch den Vaccinekeim hervorgerufen, aufzufassen sei. Tanaka betrachtete allerdings diese Veränderung in der Umgebung des Gerinnsels nicht als eine eigentliche Präzipitation, sondern als Ausdruck einer stattgefundenen Agglutination des von ihm angenommenen plasmodiumartigen Vaccinekeimes.

Freyer (2) teilt zahlreiche positive Versuche über Präzipitation bei Vaccine mit. Als Antigen verwendete er unfiltrierte, glyzerinierte Lymphe; die Flüssigkeit war infolgedessen trüb. Es können daher seine Versuche nicht als einwandfrei betrachtet werden, da bei trüben Flüssigkeiten eine richtige Beurteilung der Reaktion nicht möglich ist.

O. Casagrandi (3) stellte die Existenz von Vaccinepräzipitinen in der Weise fest, daß er Lymphe durch Chamberlandkerzen filtrierte und das Filtrat mit dem Serum von Hunden, die durch Einverleibung steigender Dosen desselben Filtrates immunisiert worden waren, zusammenbrachte.

v. Prowazek (4) behauptet, daß der flockige Niederschlag, welcher sich beim Zusammenbringen von animaler Lymphe und Immunserum bildet, nicht als Präzipitation zu betrachten sei; es handle sich da viel-

mehr um ein Absinken von Epithelfragmenten, die in der an sich trüben Flüssigkeit in reichlichem Maße enthalten sind.

v. Pirquet (5) kam bei Versuchen mit Serum von vaccinierten Kindern zu dem Schlusse, daß dasselbe keine Präzipitine gegenüber Kuhlymphe enthalte.

Endlich sind noch die Beobachtungen von M. Belin (6) über die sogenannte „*précipitation réversible*“ bei vaccinierten Eseln und Pferden zu erwähnen. Nach Belin soll das Serum dieser Tiere durch Erhitzen auf 50–52° präzipitierende Eigenschaften gewinnen. Bei längerem Erwärmen bis auf 65° klärt sich das Serum wieder. Diese Eigenschaft besitzt zwar nach den Untersuchungen von Agnaud und Frasey auch das Serum von Tieren, die gegen Milzbrand immunisiert worden sind, sie soll jedoch nach Belin im Serum von vaccinierten Tieren länger erhalten bleiben.

Unsere eigenen Versuche, zu denen wir im folgenden übergehen, gründen sich auf einen Gedankengang, den Herr Professor Kolle angeregt hat: den Nachweis von Thermopräzipitinen bei Variola-Vaccinen nach dem von Ascoli (7) angegebenen Thermopräzipitationsverfahren zu versuchen und so eine Serumdiagnostik der Pocken zu ermöglichen. Zur Kontrolle haben wir meist auch die gewöhnliche Methode des Präzipitinnachweises angewandt.

Wie oben erwähnt, sind bei Präzipitationsversuchen absolut klare Flüssigkeiten notwendig. Bei unseren Versuchen hat sich zur Gewinnung eines solchen brauchbaren Antigens das nachfolgende Verfahren bewährt:

Etwa 2 g frische Pusteln, von verschiedenen Tieren gesammelt, wurden mit Quarzsand im Mörser während etwa einer Stunde unter allmählicher Zugabe von 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben, die gewonnene emulsionsartige Flüssigkeit für 2 Tage im Eisschrank und für 24 Stunden im Brutschrank bei 37° belassen und hierauf in 2 Portionen geteilt. Die eine, für die gewöhnliche Präzipitation bestimmte Portion wurde durch Papier und darauf durch Berkefeldkerzen filtriert, der andere Teil, welcher für das Thermopräzipitationsverfahren dienen sollte, wurde während 15 Minuten auf 100° im Wasserbad erwärmt und ebenfalls durch Papier und Berkefeldkerzen filtriert. Als Kontrolle verwendeten wir 2 g Haut eines nicht geimpften Tieres, welches Material in gleicher Weise wie das spezifische Antigen verarbeitet wurde. Alle diese Extrakte waren vollständig klar und durchsichtig und konnten längere Zeit in unverändertem Zustande aufbewahrt werden, falls äußerliche Verunreinigungen nicht eingetreten waren. Hat aber eine Invasion von Fremdkeimen stattgefunden, so wird der Extrakt trüb, und man muß sich einen neuen bereiten.

Die Ausführung der Reaktion geschah in Glasröhrchen von 7 cm Höhe und 4 mm Durchmesser. Mittels ausgezogener Pipette wurde zu-

erst das Immuns Serum in die Röhren eingebracht und darüber der Extrakt in sorgfältiger Weise aufgeschichtet. Wir haben unsere Versuche an Kaninchen, Rindern und an Menschen ausgeführt.

Versuche an Kaninchen.

20 Kaninchen wurden am Rücken rasiert und in die enthaarte Fläche gut wirksame Kuhlymphe mittels eines Wattebäuschchens eingerieben. Alle 2 Tage wurde den Tieren aus der Ohrvene Blut entnommen und das gewonnene Serum auf

Tabelle I.

Versuche an vaccinierten Kaninchen.

No. des Kan.	Vacciniert am	Ergebnis der Impfung	Thermopräzipitation		Bemerkungen
			Eintritt	Ver-schwinden	
1	8. I. 16	12. I. Konfluierende Pusteleruptionen	17. I. 16	9. III. 16	Das Tier starb am 1. III.
2	10. II. 16	14. II. Schöne und zahlreiche Pusteln	21. II. 16	?	
3	10. II. 16	Rötung und Abschuppung ohne Pustelbildung	19. II. 16	29. IV. 16	
4	10. II. 16	15. II. Große, schöne Pustelbildung	19. II. 16	25. V. 16	Besonders starke Präzipitation
5	10. II. 16	Starke Rötung, Papel- und Borkenbildung. Das Tier scheint schwer krank zu sein	18. II. 16	15. IV. 16	Präzipitation ganz minimal
6	29. II. 16	5. III. Sehr schwache Eruption; keine typischen Pusteln	14. III. 16	27. IV. 16	Keine Präzipitation Starke Präzipitation
7	29. II. 16	4. III. Schöne Pusteln	12. III. 16	19. V. 16	
8	3. III. 16	7. III. Einzelne schöne Pusteln	15. III. 16	1. VI. 16	
9	3. III. 16	Rötung, Krustenbildung und Abschuppung ohne Pustulation	11. III. 16	18. V. 16	
10	3. III. 16	Keine vaccinale Reaktion	—	—	
11	15. III. 16	19. III. Zahlreiche, kleine, isolierte Pusteln	25. III. 16	2. VII. 16	Starke Präzipitation
12	15. III. 16	20. III. Krustenbildung ohne vorhergehende Pusteln	23. III. 16	13. VI. 16	
13	18. IV. 16	22. IV. Kräftige Pustelbildung	29. IV. 16	31. VII. 16	
14	18. IV. 16	23. IV. Schwache Eruption; nur 3 Pusteln	1. V. 16	5. VI. 16	
15	18. IV. 16	23. IV. Zahlreiche kleine Pusteln	27. IV. 16	15. VI. 16	
16	2. V. 16	6. V. Konfluierende Pusteleruptionen	11. V. 16	4. VIII. 16	Starke Präzipitation
17	2. V. 16	7. V. Krustenbildung ohne vorhergehende Pusteln	11. V. 16	10. VII. 16	Ganz schwaches Präzipitat
18	2. V. 16	6. V. Kleine, isolierte Pustelbildung	15. V. 16	28. VII. 16	
19	2. V. 16	6. V. Sehr starke Pustulation	10. V. 16	12. VIII. 16	
20	2. V. 16	6. V. Nur 2 kleine Pusteln	15. V. 15	16. V. 16	

das Vorhandensein von Präzipitinen und Thermopräzipitinen geprüft und die Untersuchung so lange fortgesetzt, bis das Blut einen dauernd negativen Ausfall der Reaktion zeigte. Auf Grund dieser Versuche konnte mit Sicherheit sowohl der Zeitpunkt des ersten Auftretens der Präzipitine im Blute, wie derjenige ihres Verschwindens aus demselben festgestellt werden.

Wie aus Tabelle I hervorgeht, treten die Präzipitine im Blute geimpfter Kaninchen am 8.—14. Tage nach der Vaccination auf, um nach $1\frac{1}{2}$ —4 Monaten wieder zu verschwinden. Einen sinnfälligen Ausdruck findet das allmähliche Anwachsen der Präzipitine im Blute und ihr nachträgliches Verschwinden in dem ringartigen Präzipitat der Versuchsröhrchen, das in der ersten Zeit nur schwach angedeutet ist, später an Volumen zunimmt, um gegen das Ende wieder abzunehmen.

Bei diesen Versuchen zeigte sich ferner, daß Tiere, die eine schwache Vaccinereaktion aufwiesen, in ihrem Blute nur wenig Präzipitine enthielten, die auch rasch daraus verschwanden. Um diese Erscheinung näher zu prüfen, wurden 4 Kaninchen mittels Schnittmethode geimpft, wobei 2 Tiere je einen Einschnitt von 1 cm Länge und die beiden anderen 20 solcher Einschnitte auf dem rasierten Rücken erhielten. Die Untersuchung des Serums dieser Tiere auf Präzipitine hat folgendes ergeben:

Kaninchen No. 1. Mit einem einzigen Einschnitt geimpft. Am 4. Tage Bildung einer schönen Pustel. Normaler Verlauf. Am 11. Tage ganz schwache Thermopräzipitation, die bis zum 40. Tage zwar nachweisbar, aber immer nur sehr schwach angedeutet war.

Kaninchen No. 2. Ein Impfschnitt. Pustelentwicklung am 4. Tage mit typischem Verlauf. Am 12. Tage ließen sich Thermopräzipitine nachweisen, die am 56. Tage verschwanden. Auch hier war das Präzipitat ganz minimal.

Kaninchen No. 3. 20 Impfschnitte. Schöne Pusteln am 5. Tage, die sich in gewöhnlicher Weise weiterentwickelten. Am 9. Tage deutliche Thermopräzipitation, die am 95. Tage nicht mehr wahrnehmbar war. Das Präzipitat, obzwar an sich nicht sehr massig, war doch im Vergleich mit dem in den obigen Fällen beobachteten viel kräftiger ausgebildet.

Kaninchen No. 4. 20 Impfschnitte. Pustelentwicklung am 4. Tage. Normaler Verlauf. Am 10. Tage erstes Auftreten der Präzipitine, die am 78. Tage verschwanden. Auch hier war das Präzipitat ziemlich stark ausgebildet.

Diese Resultate stimmen mit den klinischen Beobachtungen von William Hanna (8) überein, nach welchen die Zahl und Größe der Narben mit der Intensität der Immunität in Beziehung stehen sollen.

In einem weiteren Versuche wollten wir die Präzipitationsvorgänge an Tieren beobachten, die mit abgetöteter Lymphe geimpft waren. Zu diesem Zwecke wurden 4 Kaninchen mit je 1 g frischer Lymphe und 4 andere mit je 1 g abgetöteter Kuhlymphe subkutan geimpft. Es zeigte sich dabei, daß bei den mit lebender Lymphe behandelten Tieren Präzipitine 12—15 Tage nach der Impfung nachweisbar waren, um nach 50—75 Tagen wieder zu verschwinden. Hingegen konnten im Serum der mit abgetöteter Lymphe geimpften Tiere keine Präzipitine nachgewiesen werden. Sämtliche Tiere wurden später kutan mit virulenter Lymphe geimpft, und zwar die erste Reihe mit negativem, die letztere mit positivem Resultat. Dieser Ausgang der kutanen Impfung, wobei die mit abgetöteter Lymphe geimpften Tiere als voll empfänglich gegenüber virulenter Vaccine sich erwiesen, steht im Widerspruch mit anderen gegenteiligen Beobachtungen. Vielleicht ist eine Lösung dieses Widerspruches in dem Umstande zu finden, daß die Abtötung der Lymphe in unseren Versuchen wohl bei zu hoher Temperatur stattgefunden hatte.

Zum Schlusse untersuchten wir noch das Serum von Tieren, die corneal geimpft worden waren: Präzipitine konnten in keinem einzigen Falle festgestellt werden.

Hervorgehoben sei, daß bei allen Versuchen die Reaktion stärker und deutlicher auftrat, wenn Thermoextrakte als präzipitable Substanz verwendet wurden.

Zur Sicherung der Befunde wurden ferner eine Reihe von Kontrollversuchen angestellt, die im folgenden zusammengestellt sind:

1) Kaninchen-Immunserum wurde mit Extrakt von normalen Kuhhautepithel überschichtet. Eine Reaktion trat niemals ein.

2) Kuhpustelextrakt mit normalem Kaninchenserum ergab ebenfalls ein negatives Resultat.

3) 2 Kaninchen wurden mit glyzeriniertem Kuhhaut-epithel auf dem rasierten Rücken geimpft und das Serum dieser Tiere während eines nachfolgenden Zeitraumes von 20 Tagen wiederholt mit Kuhpustelextrakt behandelt. Auch hier war die Reaktion stets negativ.

Versuche an Rindern.

Die ersten von uns an Rindern angestellten Versuche beschränkten sich aus Gründen der Oekonomie lediglich darauf, festzustellen, an welchem Tage nach stattgefundener Vaccination die Präzipitine im Blute der geimpften Tiere auftreten. Diese Untersuchungen, die sich auf 25 Rinder beziehen, ergaben, daß 5—7 Tage nach erfolgreicher Vaccination Präzipitinbildung nicht nachzuweisen ist.

Später gingen wir dazu über, an einzelnen Tieren, die zu diesem Zwecke in den Stallungen des Vaccine-Institutes längere Zeit belassen wurden, die Vorgänge der Präzipitinbildung genauer zu studieren. Die Ergebnisse waren folgende:

Tier No. 1 wurde am 1. April 1916 mittels gewöhnlicher Schnittmethode am Bauche geimpft. Am 6. Tage trat schöne Pustelbildung auf, und die Abimpfung fand am gleichen Tage statt. Jeden zweiten Tag wurden dem Tiere kleine Mengen Blut entnommen und das Serum untersucht. Eine positive Reaktion trat am 12. Tage nach der Impfung zum erstenmal auf, wurde in den folgenden Tagen immer stärker und verschwand wieder etwa nach 3 Monaten. Dabei konnten wir die interessante Beobachtung machen, daß das scheinbar unwirksam gewordene Serum wieder wirksam gemacht werden konnte, wenn man es während einer Stunde bei 60° erhitzte. Diese Reaktivierung des Serums gelingt noch während weiterer 2 Monate. Nach 5 Monaten sind auch mittels Erwärmens des Serums keine Präzipitine mehr nachweisbar. Sera von ungeimpften Tieren zeigen dieses Phänomen nicht, ebenso bleibt die Reaktion vollkommen aus, wenn man frisches Serum einer nicht geimpften Kuh mit einem auf 60° erwärmten Kuhimmunserum zusammenbringt und die Mischung 24 Stunden stehen läßt.

Tier No. 2 wurde am 12. Okt. mit gutem Erfolg geimpft. Am 23. Okt. wurde im Serum eine ganz schwache Thermopräzipitationsreaktion beobachtet, die zunächst zunahm, um am 14. Dez. wieder zu verschwinden. Auch hier hat sich gezeigt, daß nach Erwärmen auf 60° die Präzipitation stärker wird. Diese Erscheinung hat jedoch nichts zu tun mit der „*précipitation réversible*“, die Belin bei vaccinierten Einhufern beobachtet hat, da das Serum sich in unseren Versuchen während der Erwärmung auf verschiedene Temperaturgrade niemals getrübt hatte. Hinzugefügt sei noch, daß in der Milch dieser beiden Kühe Präzipitine nicht nachgewiesen werden konnten.

Versuche an Menschen.

In 3 Fällen, welche Personen betrafen, die zum erstenmal geimpft worden waren, haben wir das erste Auftreten der Präzipitine am 10.—12. Tage nach der Impfung beobachtet; nach 2—4 Monaten waren die Antikörper aus dem Blute verschwunden. Bei 10 erfolgreich Revaccinierten fanden sich Präzipitine schon am 7.—11. Tage nach der Impfung und waren nach 2—3 Monaten nicht mehr nachweisbar. Auch hier wurde die Methode der Thermopräzipitation mit Vorteil angewandt. Kontrollversuche mit Serum von ungeimpften Personen oder von solchen, die seit 20 Jahren nicht mehr geimpft worden waren, sind immer negativ ausgefallen.

Um unsere Untersuchungen auf breiterer Grundlage durchzuführen, haben wir sämtliche Blutproben, die in die Untersuchungsabteilung des Institutes für Zwecke der Diagnose (Wassermann, Widal etc.) eingingen, nebenbei auch zur Präzipitationsreaktion herangezogen und uns zugleich durch Fragebogen an die behandelnden Aerzte über den Impfzustand der Betreffenden zu orientieren gesucht. Wir nehmen an dieser Stelle gern die Gelegenheit wahr, den Herren Kollegen für die bereitwilligst erteilte Auskunft zu danken.

Im ganzen wurde das Serum von 415 verschiedenen Patienten untersucht. Die Resultate sind in der nachstehenden Zusammenstellung enthalten.

Tabelle II.

	Prä- zipitation	Thermo- präzipitation	Kontrolle mit Hautextrakt
2 Fälle, die in den letzten 3 Monaten, welche der Untersuchung vorangingen, vacciniert wurden	alle positiv	alle positiv	alle negativ
6 Fälle, die vor 3—6 Monaten mit Erfolg vacciniert wurden	2 positiv	4 positiv	alle negativ
9 Fälle, die vor 6—12 Monaten mit Erfolg vacciniert wurden	alle negativ	1 positiv	alle negativ
398 Fälle, die länger als 1 Jahr vor der Untersuchung vacciniert wurden	alle negativ	alle negativ	alle negativ

Diese Resultate stimmen vollkommen mit den Ergebnissen der vorhergehenden Versuche an vaccinierten Menschen überein.

Hervorzuheben ist, daß in keinem einzigen Falle Präzipitine im Serum von Menschen nachgewiesen werden konnten, die länger als ein Jahr vor der Untersuchung vacciniert worden waren. Ferner zeigen die Versuche, daß im Serum von Syphilitikern oder von syphilisverdächtigen Personen, ebenso von Personen, die an Ekzem, Psoriasis und anderen Hautaffektionen leiden, sowie im Serum von Typhus- oder Paratyphuskranken keine die Präzipitationsreaktion hervorrufenden Antikörper nachzuweisen sind. Ebenso wurde die Reaktion vermißt im Serum von Kindern, die an Impetigo contagiosa litten, wie wir in mehreren Fällen festzustellen Gelegenheit hatten.

Um die Wirksamkeit unserer Extrakte genauer zu ermitteln, wurden Verdünnungen derselben mittels physiologischer Kochsalzlösung hergestellt und dieselben gegenüber einem sicher präzipitierenden Serum ausgewertet. Es hat sich dabei erwiesen, daß eine Thermo-Extraktverdünnung von 1:800 deutlich präzipitierend wirkt. In ähnlicher Weise wurde andererseits das Vaccineimmunserum von 4 Kaninchen, die 20 Tage vor der Blutentnahme mit Erfolg geimpft worden waren, geprüft. Es zeigte sich, daß das Serum nur in Verdünnungen von 1:15 bei Gegenwart des unverdünnten Thermoextraktes zu sicherer Niederschlagsbildung führt.

Bei allen diesen Versuchen hat sich in deutlicher Weise erwiesen, daß die Thermopräzipitationsmethode zuverlässiger arbeitet und sicherere Ergebnisse zeitigt, als das gewöhnliche Präzipitationsverfahren. Das dabei entstehende ringförmige Präzipitat ist deutlicher ausgesprochen; die Methode der Thermopräzipitation erscheint daher als viel empfindlicher gegenüber kleinsten Mengen Präzipitin. Dazu bietet das Thermoextrakt den Vorteil größerer Haltbarkeit, da es vollständig steril und frei von anderen Eiweißstoffen ist.

Wie aus den obigen Versuchen zu ersehen ist, sind im Serum von Vaccinierten regelmäßig Präzipitine (wohl unzweifelhaft spezifischer Natur) zu finden. Diese Tatsache hat uns auf den Gedanken gebracht, daß die Thermopräzipitationsmethode als differentialdiagnostisches Mittel zur Unterscheidung der Variola- oder der Vaccineerkrankung von ähnlich verlaufenden Krankheiten, wie z. B. Varizellen, mit Vorteil herbeigezogen werden könne.

Da die Präzipitine nach unseren Untersuchungen bereits etwa 12 Tage nach stattgefundener Infektion im Blute auftreten, so ist durch die Anwendung dieses Verfahrens die Möglichkeit geboten, in zweifelhaften Fällen schon relativ frühzeitig Aufschluß über die Natur einer pockenartigen Erkrankung zu erhalten.

Die Identifizierung einer Variola- oder Vaccineerkrankung mittels des Präzipitationsverfahrens kann aber auch, wie unsere weiteren Versuche gezeigt haben, in der Weise festgestellt werden, daß man als Ausgangsmaterial für das Antigen (Thermoextrakt) nicht Kuhpockenpusteln, sondern die betreffenden verdächtigen Effloreszenzen selbst benützt, indem man einige Pusteln abschabt, sie in der angegebenen Weise extrahiert und den Extrakt mit einem sicheren Vaccine-Immunserum zusammenbringt.

Die Möglichkeit einer solchen Versuchsanordnung geht aus folgenden Experimenten hervor:

Mehrere Kaninchen wurden auf dem Rücken vacciniert. Von Zeit zu Zeit wurde das Serum der einzelnen Tiere mit Kuhpockenpustel-Thermoextrakt auf das Vorhandensein von Präzipitinen untersucht. Diejenigen Tiere, die die stärkste Reaktion aufwiesen, wurden ungefähr 20 Tage darauf entblutet,

das Serum aseptisch gewonnen und in sterilen Röhrchen im Eisschrank aufbewahrt.

Dieses an Präzipitinen reiche Vaccine-Immunserum wurde mit verschieden zubereitetem Pustelextrakt von 20 verschiedenen vaccinierten Kühen und 15 geimpften Kaninchen überschichtet. In allen Fällen bildete sich nach 10—20 Minuten ein deutliches Präzipitat, das noch stärker wurde, wenn man die Röhrchen einige Zeit im Brutschrank bei 37° beließ. Auch mit Pustel-Thermoextrakt von 2 geimpften Menschen hatte sich ein starkes Präzipitat gezeigt. Dagegen waren mehrere Proben mit Normalhaut-Thermoextrakt von Kühen, Kaninchen und von Menschen, sowie mit Krusten-Thermoextrakt von Varizellen, Impetigo contagiosa und Ekzem und mit Schuppen-Thermoextrakt von Dermatitis exfoliativa und anderen Hautkrankheiten immer negativ ausfallen.

Es ergibt sich daraus, daß mittels eines vorrätig gehaltenen, sicheren Vaccine-Immunserums die Natur einer verdächtigen Pustulation durch Anwendung des Thermopräzipitationsverfahrens ermittelt werden kann.

Diese Modifikation unseres Verfahrens hat den großen Vorteil, daß Immunsera zum Zwecke der Diagnose lange aufbewahrt werden können, ohne ihre Wirkung zu verlieren, während die Haltbarkeit der Thermoextrakte relativ begrenzt ist.

Versuche an Pockenkranken konnten wir wegen Mangels an Material nicht vornehmen. Bei der fast allseits anerkannten Identität der Erreger der Vaccine und Variola ist es aber selbstverständlich, daß die Thermopräzipitationsprobe bei beiden Erkrankungen mit gleichem Erfolg benutzt werden kann.

Zur klinischen Verwendung empfiehlt es sich, den Pustel-extrakt in folgender Weise zu bereiten: Etwa 2 Pusteln werden gründlich mit etwas Quarzsand in einem kleinen Mörser und Zufügung von 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung gründlich verrieben. Diese emulsionsartige Flüssigkeit gießt man in ein Röhrchen, erwärmt es 5 Minuten lang auf 100° im Wasserbade und läßt es darauf für 2 Stunden stehen. Dann wird die Flüssigkeit mehrmals durch gehärtete Papierfilter filtriert, bis sie ganz klar abläuft.

Das Immunserum kann, wie bereits oben erwähnt, ohne Einbuße an Wirksamkeit längere Zeit aufbewahrt werden.

Wir selbst haben mit einem 5 Monate alten Serum gearbeitet und stets eine gute Reaktion beobachtet.

Nach dem oben Gesagten gestaltet sich die Ausführung der von uns empfohlenen Methode der Thermopräzipitation wie folgt: Befindet sich der Kranke im Pustulationsstadium, so bereitet man von einigen Pusteln des Patienten einen Extrakt und überschichtet damit ein vorrätig gehaltenes Kaninchen-Vaccineimmunserum. Ist dagegen die Pustulation bereits vorüber, so nimmt man einige Tropfen Patientenblut und überschüttet das gewonnene Krankenserum mit Kuh- oder Kaninchen-Vaccinepustel-Thermoextrakt.

Zusammenfassung.

1) Im Blute von vaccinierten Menschen und von vaccinierten Kühen und Kaninchen finden sich spezifische Präzipitine.

2) Der Nachweis der spezifischen Präzipitine gelingt am sichersten mittels der Methode der Thermopräzipitation, namentlich in Fällen, wo die Präzipitinbildung nur gering ist.

3) Die Präzipitationsreaktion scheint um so stärker aufzutreten und um so länger anzuhalten, je ausgiebiger die vorausgegangene Impfung war.

4) Die Thermopräzipitation kann in zweifelhaften Fällen von Variola als differentialdiagnostisches Mittel benutzt werden.

Bibliographie.

- 1) Tanaka, Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 1902, p. 726.
- 2) Freyer, M., Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, 1904, p. 272.
- 3) Casagrandi, O., Policlinico, Sec. Prot. 1905, Fasc. 15.
- 4) v. Prowazek, S., zitiert nach Karl Süpfle, Archiv f. Hyg., Bd. 68, 1909, p. 237.
- 5) v. Pirquet, C., Wiener klin. Wochenschr., 1906, p. 2408.
- 6) Belin, M., Rev. internat. de la Vaccine, T. 3, 1912/13, No. 5, p. 371.
- 7) Ascoli, A., Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 58, p. 63.
- 8) William, Hanna, Studies in small-pox and vaccination, 1913.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie,
Berlin-Dahlem (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. A. v. Wassermann).]

Die Lebensdauer der für die Wassermannsche Reaktion benötigten Reagentien ¹⁾.

Von Dr. Carl Lange,
Assistent der bakteriologischen Abteilung.

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Januar 1917.)

Die zur Wassermannschen Reaktion benötigten Reagentien sind ausnahmslos einem mehr oder minder raschen Verderben ausgesetzt; eine Tatsache, der die gegebene Originalmethode durch besondere Vorschriften Rechnung trägt. Es sind nun im Laufe der Jahre in größerer oder geringerer Uebereinstimmung mit dieser Originalmethode Vorschläge gemacht worden, durch besondere Methoden die am leichtesten dem Verderben ausgesetzten Reagentien, das Komplement und das Hammelblut, durch besondere Zusätze oder durch die Art der Aufbewahrung zu konservieren, doch scheint noch nicht hinlänglich bekannt und untersucht zu sein, inwieweit diese Methoden zulässig sind.

Die dritte Komponente des hämolytischen Systems, das Hämolysin, wird regelmäßig aufbewahrt, und gibt es hierfür verschiedene Methoden der Konservierung; die Auswahl unter diesen ist schon deswegen weniger von Belang, als das Hämolysin jedesmal von neuem titriert werden muß, und der eventuellen Abschwächung entsprechend Rechnung getragen wird.

Diese drei Komponenten des hämolytischen Systems sind in ihrer Veränderlichkeit schon seit langem genügend bekannt; die Konservierung von Hammelblut und Komplement kommt sonst nur aus Ersparnisgründen in Frage, hat aber jetzt in Kriegszeiten eine ganz besondere Bedeutung gewonnen, weil zu manchen Zeiten Meerschweinchen, des enorm erhöhten Bedarfs wegen, schon sehr knapp waren, und andererseits ein Bezug von Hammelblut aus den Schlachthäusern nicht mehr möglich ist, wodurch sich sonst wohl die meisten kleineren Institute eindecken.

Ueber die Veränderungen, die Extrakte während der Aufbewahrung durchmachen, haben wir — wenigstens soweit es

1) Zugleich ein Beitrag zur Frage der differenten Resultate verschiedener Untersucher.

sich nicht um die wenig mehr verwendeten wässerigen Luesleberextrakte handelt — kaum Aufzeichnungen in der Literatur gefunden, obwohl dies ein Punkt ist, der nicht übersehen werden darf. Praktisch am wichtigsten von allen Veränderungen, welche die bei der Wassermannschen Reaktion verwendeten Reagentien betreffen können, scheinen uns aber die des Patientenserums zu sein, obwohl hierauf sicher zu wenig geachtet wurde, oder diese Veränderungen zum Teil in falscher Deutung gebracht wurden; es ist — was wir gleich hier vorwegnehmen wollen — keineswegs belanglos, ob man ein Serum, wie es die Originalmethode verlangt, möglichst innerhalb 24 Stunden untersucht, oder ob es, womöglich im heißen Sommer, tagelang mit der Post unterwegs ist, bis es endlich zur Untersuchung kommt. Wir sehen darin eine an und für sich unzulässige Abweichung von der Originalmethode, die, falls die äußeren Verhältnisse sie nötig machen, auch besondere Untersuchungsmethoden bedingen würde. Ein großer Teil der immer wieder behaupteten Differenzen in den Resultaten verschiedener Untersucher kann — einwandsfreie Untersuchung nach der Originalmethode vorausgesetzt — auf solche Verhältnisse zurückgeführt werden, und man muß sich darüber klar sein, daß der Fehler, der zu einem falschen oder differenten Resultat (was nicht unbedingt gleichbedeutend ist) führte, nicht den Untersuchern oder der Methode zur Last zu fallen braucht, sondern auch von dem gemacht werden konnte, der das Serum abnahm und an verschiedene Untersucher verteilte. Wie groß unter den verschiedenen Verhältnissen derartige Differenzen bei einwandsfreier Untersuchung werden können, werden wir weiter unten besprechen.

Bezüglich der Konservierung des Hämolsins wollen wir uns möglichst kurz fassen, eine Fehlermöglichkeit kann durch verschiedene Verfahren kaum entstehen, da davor der jedesmalige hämolytische Vorversuch schützt, der die Stärke des Hämolsins am Versuchstage feststellt, nicht aber, wie vielfach fälschlich angenommen wird, eine Titrierung des hämolytischen Systems darstellt (s. weiter unten). Wir wollen daher nur die bekannt gewordenen Verfahren zur Konservierung in flüssigem und trockenem Zustande anführen, und welche Erfahrungen wir damit machten.

Die älteste und am allgemeinsten geübte Methode ist die, das Hämolsin in inaktiviertem Zustande, eventuell auf kleine Portionen in zugeschmolzene braune Röhrchen verteilt, im Eisschrank oder im „Frigo“ aufzubewahren. Die Aufbewahrung im Frigo liefert ganz ausgezeichnete Resultate, doch möchten wir gleich hier darauf hinweisen, daß für den Betrieb der Wassermannschen Reaktion die hohen Anschaffungs- und Betriebskosten eines Frigo sich kaum lohnen, da wir sowohl für Hämolsin- als auch für Komplementkonservierung billigere Methoden besitzen, die teils dasselbe, teils mehr leisten.

Für konserviertes Hämolsin kommt häufig Versand per Post und Lagerung in nicht gekühlten Räumen in Frage, bei der eine rein aseptische Aufbewahrung nicht befriedigende Resultate liefert.

Will man daher das Hämolsin in flüssigem Zustande aufbewahren, so fügt man am besten ein Antiseptikum zu; wir geben zu 10 ccm hämolytischem inaktiviertem Kaninchenserum 0,6–0,8 ccm einer Mischung von folgender Zusammensetzung hinzu:

NaCl 0,85-proz.	90 ccm
Glyzerin	5 „
Ac. carbol. liquefactum	5 „

Das Karbol muß angemessen verdünnt werden, da sonst sofort erhebliche Niederschläge mit einer Schädigung des Titers auftreten; später eventuell auftretende Trübungen bei Zusatz passend verdünnten Phenols sind gleichgültig, und können derartige Röhrchen ruhig benutzt werden.

Durch den Karbolzusatz wird der hämolytische Titer, wenigstens unmittelbar darauf, in keiner Weise geschädigt; die Haltbarkeit ist — wie auch bei den meisten anderen Methoden — keineswegs unbegrenzt, aber vollkommen ausreichend.

Man kann nun auch das hämolytische Serum statt in flüssigem auch in getrocknetem Zustande aufbewahren, wozu mehrere Methoden dienen.

Entweder trocknet man das Serum im Vakuumexsikkator, was meist — wenn die Trocknung nicht recht schnell durchgeführt wird — zu unerfreulichen Resultaten führt, oder man dampft besser das Wasser im Faust-Heimschen Apparat ab. Für 1 ccm Serum rechnet man dann ungefähr 0,1 g des trockenen Pulvers.

Abgesehen von der Schädigung noch während des Trockenprozesses, sind diese Trockenpulver meist von nicht allzu

großer Haltbarkeit. Bessere Resultate liefert das Antrocknen abgemessener kleinster Hämolysinmengen an Fließpapier von geeigneter Beschaffenheit, das dann zum Gebrauch mit der entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung digeriert wird; man erhält auf diese Weise verschickbare Hämolysine, die vor allen Dingen bei genügender, wenn auch nicht unbegrenzter Haltbarkeit den Vorteil haben, daß man sich auch kleine Mengen Hämolysin in der Gebrauchsverdünnung ohne den Materialverlust herstellen kann, der sonst dadurch bedingt wird, daß man stets 0,1 ccm Hämolysin abmessen muß, weil sich noch kleinere Mengen nicht genau abmessen lassen.

Für diese begrenzten Zwecke verdient die Antrocknung an Papier alle Beachtung, ihr Vorteil gegenüber den oben geschilderten Trocknungsverfahren liegt namentlich darin, daß die sehr große Oberfläche ein genügend schnelles Eintrocknen bedingt, und dadurch Veränderungen während des Trocknens möglichst vermieden werden.

Loeffler hatte schon früher eine ähnliche Methode vorgeschlagen, die darauf beruht, abgemessene kleine Mengen von Flüssigkeiten von entsprechend großen Stücken Würfelzucker aufsaugen zu lassen, die dann bei Brutschranktemperatur sehr schnell getrocknet werden können. Daß bei der Auflösung der Zucker mit in Lösung geht, ist gegenüber der Fließpapiermethode ein Nachteil, der allerdings für die meisten Zwecke kaum ins Gewicht fallen dürfte.

Liegt nun der Vorteil der zuletzt geschilderten Methoden in der Schnelligkeit der Trocknung, so gibt es chemische Methoden, die diese Schnelligkeit in noch höherem Maße gewährleisten und dabei doch auch bei der Verarbeitung größerer Mengen im gewöhnlichen Laboratoriumsbetrieb durchzuführen sind. Man benutzt dann stark kristallwasserhaltige, natürlich indifferente Chemikalien in wasserfreiem Zustande zur Trocknung des Serums.

Schon vor längerer Zeit ist zu diesem Zwecke geglühtes Natriumsulfat vorgeschlagen worden; entsprechend dem ausgetriebenen Kristallwasser benutzt man davon 0,7–1,0 g auf 1 ccm Serum, pulvert das Gemisch und bewahrt es möglichst vor Licht und Luft geschützt auf. Da das Natriumsulfat schwer mit der Hand zu pulverisieren ist, gaben wir das abgewogene Gemenge Serum und Natriumsulfat in eine Kugelmühle, wobei man in relativ kurzer Zeit ein staubfeines Pulver erhält, von dem je nach Verarbeitung 1,7–2,0 g 1 ccm Hämolysin entsprechen. Dieser

letztere Umstand ist ein zweiter nicht zu unterschätzender Vorteil gegen über der Trocknung des Serums im Exsikkator oder im Faust-Heim, denn hier ergibt 1 ccm Serum nur 0,1 g Pulver, so daß die kleinen Mengen, die man für einen Versuch braucht, kaum genau abgewogen werden können und man stets mit unnötigem Materialverlust arbeitet, wenn man nicht vorzieht, sich für eine gewisse Zeit eine entsprechende Menge gelösten Hämolysins vorrätig zu halten.

Demgegenüber arbeitet die Methode der Trocknung mit Natriumsulfat nicht allein sicherer, sondern auch sparsamer; die Vorratslösung fällt hierbei fort.

Das auf diese Weise erhaltene Trockenpulver teilt man am besten in kleine Mengen ab und schmilzt sie in kleine dunkle Flaschen ein. Wir arbeiteten früher mit einem derartig hergestellten Hämolysin, das bei außerordentlich großem Betrieb fast 2 Jahre vorhielt, ohne daß während dieser Zeit eine stärkere Abschwächung des ursprünglichen Titors festzustellen war.

Zum Gebrauch löst man das Natriumsulfatserumpulver nicht in Kochsalzlösung, sondern man gibt zu 0,1 g des Pulvers 10 ccm destilliertes Wasser, wobei die 0,7—1-proz. Natriumsulfatlösung an Stelle der physiologischen Kochsalzlösung tritt, und verdünnt dann weiter mit NaCl. Das Pulver löst sich, wenn in der Kugelmühle hergestellt, spielend leicht in destilliertem Wasser auf.

Will man aus irgendwelchen Gründen, die bei der Wassermannschen Reaktion allerdings kaum in Frage kommen dürften, die Zumischung des Natriumsulfats vermeiden, so kann man sich einer Methode bedienen, die Verfasser seit einigen Jahren für verschiedene Zwecke in Anwendung gezogen hat.

Man verreibt abgemessene Mengen Serum mit entsprechenden Mengen Gips, wieder am besten mit der Kugelmühle, und erhält so in kürzester Zeit ein Trockenpulver, aus dem man den Serumbestandteil mit Leichtigkeit wieder herauslösen kann, ohne daß irgendwelche fremde Bestandteile mit in Lösung gehen; der Gips setzt sich leicht ab, kann auch, wenn nötig, durch Zentrifugieren entfernt werden. Wir erzielten mit dieser Methode, die sich an die übliche Trocknung von Gehirnssubstanz zwecks Aetherextraktion etc. anlehnt, für die Konservierung von Hämolysin ausgezeichnete Resultate.

Hat die Natriumsulfatmethode den — wenn auch gering zu veranschlagenden — Nachteil, daß ein fremder Bestandteil in das Reaktionsgemisch eingebracht wird, und daß man

mindestens erst eine Verdünnung von 1 : 100 mit destilliertem Wasser herstellen muß, um Isotonie zu erzielen, dieses Verfahren demnach ohne weiteres für die Konservierung von Komplement und Patientenserum, die in stärkeren Konzentrationen gebraucht werden, nicht anwendbar ist, so hat dies Verfahren andererseits vor der Verwendung von Gips den Vorteil, daß man sich durch Augenschein von der vollzogenen restlosen Auflösung überzeugen kann, obwohl dies beim Gips keine schädigenden Folgen hat; jedenfalls glauben wir, je nach den vorliegenden Bedürfnissen, das eine oder andere Verfahren entschieden empfehlen zu dürfen, und zwar auch außerhalb der Methode der Wassermannschen Reaktion.

Auf einen Unterschied bei der Verwendung flüssig oder trocken aufbewahrten Hämolsins müssen wir hier noch hinweisen, der meist übersehen wird. Bekanntlich ist vorgeschrieben, daß für die Wassermann-Reaktion nur Hämolsine benutzt werden dürfen, die einen Titer von mindestens $\frac{1}{1000}$ besitzen; wir wollen hier nicht näher darauf eingehen, wie groß die Fehlermöglichkeiten bei Außerachtlassen dieser Vorschrift werden können. Ebenso wenig wie bei der Abgabe von Diphtherieserum ist es bei Verwendung von Hämolsinen zulässig, den Titer durch Einengen des Serums zu erhöhen, worauf eventuell bei im Handel käuflichen Hämolsinen zu achten ist. Verwendet man nun getrocknetes Hämolsin, so muß man darauf achten, daß man bei stärkerem Sinken des Titers nicht unter die zulässige Grenze herabgeht. Bei Pulvern kann man dies durch Gewichtsbestimmung erkennen, bei an Papier getrockneten Hämolsinen aber nur höchst ungenau und umständlich durch Eiweißbestimmung.

Die Differenzen der verschiedenen Methoden der Hämolsinkonservierung können nur in ihrer verschiedenen Leistungsfähigkeit bezüglich der Erhaltung des Titers gesehen werden, zu Bedenken hinsichtlich der bei der Wassermannschen Reaktion erzielten Resultate gibt unseres Erachtens keine derselben Veranlassung, was sich nicht so von vornherein bei den Methoden der Konservierung der beiden anderen Bestandteile des hämolytischen Systems behaupten läßt.

Einfach und sicher gelingt die Konservierung einer gebrauchsfertigen Hammelblutemulsion, was besonders jetzt von

erheblicher Bedeutung ist, wo die Beschaffung von Hammelblut aus den Schlachthäusern auf Schwierigkeiten stößt.

Während defibriniertes Hammelblut, gleichgültig ob in gewaschenem oder ungewaschenem Zustande, auch bei Aufbewahrung in gutem Eisschrank in 2—3 Tagen unbrauchbar wird, was sich entweder durch Auftreten von Hämolyse oder einer schmutzig violetten Verfärbung, die weiter zum Kaffeebraun fortschreitet, kenntlich macht, kann man es nach den Vorschlägen verschiedenster Autoren durch geeigneten Zusatz von Formalin gut für eine ausreichende Zeit haltbar machen. Die Zersetzung des Hammelblutes ist ausschließlich durch die unvermeidliche bakterielle Infektion bedingt, und wenn auch das Formalin in den zugesetzten Mengen keine sichere Sterilisierung des Blutes zuwege bringt, so ist doch zum mindesten seine entwicklungshemmende Kraft selbst in enormen Verdünnungen noch erheblich. Bei Verdünnungen des Formols von 1 : 10 000 bis 1 : 20 000 kann man schon einen schützenden Einfluß konstatieren.

Am besten geeignet erscheint uns ein Zusatz der käuflichen Formollösung mit ca. 40-proz. Formaldehydgehalt im Verhältnis von 1 : 700. Mit solchem Zusatz kann man das Hammelblut unbedingt während 8 Tagen nach Entnahme verwenden, ohne daß selbst mit den feinsten Untersuchungsmethoden ein Unterschied gegenüber frischem Hammelblut zu finden wäre, außer etwa, daß durch Methämoglobinbildung die hellrote Farbe etwas zurückgeht. Man kann ohne großen Schaden das Formolblut auch bei Aufbewahrung bei Zimmertemperatur noch längere Zeit benutzen, selbst nach mehr als 4 Wochen erhält man noch brauchbare, wenn auch nicht gerade sehr saubere Resultate. Das Blut reagiert noch vollkommen brauchbar, selbst wenn es schon einen stark braunen Farbton angenommen hat. Die Veränderungen bei längerer Aufbewahrung gehen in der Richtung, daß die Aufschwemmung zunehmende Hämolyse zeigt und die Blutkörperchen leichter löslich werden, während man vielleicht das Entgegengesetzte erwarten sollte. Bei Verwendung innerhalb von 8 Tagen haben wir bei außerordentlich großen und häufig angesetzten Versuchsreihen nicht den geringsten Unterschied im Ausfall der Wassermannschen Reaktion bei Verwendung von am selben Tage abgenommenem und formolisiertem Hammelblut gesehen.

Hauptsächlichste Voraussetzung dabei ist natürlich, daß die Hammelblutemulsionen genau den gleichen Gehalt an

Blutkörperchen besitzen, und daß die Blutkörperchen gleiche Beschaffenheit haben, d. h. von einem gesunden Tiere stammen. Durch eine fehlerhafte Beschaffenheit der Hammelblutemulsion kann eine erhebliche Differenz zwischen den Resultaten einzelner Untersucher zustande kommen. Der Fehler, der hierbei gemacht wird, geht immer in derselben Richtung: so viele Untersucher wir schon die Wassermannsche Reaktion haben anstellen sehen, und so viele Nuancen des gelösten Hammelblutes bis zum blassesten Rosarot wir dabei sahen, so ist es uns doch nie vorgekommen, daß ein Untersucher eine zu konzentrierte Hammelblutemulsion benutzt hätte. Dies liegt zum Teil an unachtsamer Arbeit, zum Teil aber auch an schlechten Zentrifugen. Die Originalmethode schreibt vor, daß 1 Teil Hammelblutkörperchensediment auf 20 ccm aufgefüllt wird, dies läßt sich zwar bei einiger Exaktheit mit stets genau gleichem Resultat ausführen, aber es gehört doch langes Zentrifugieren auf sehr guter Zentrifuge dazu, um das Sediment zur Konstanz zu zentrifugieren, auch muß dann mit einer Kapillarpipette die überstehende Waschflüssigkeit restlos abgehoben werden. Diesen Bedingungen wird nicht immer, oder sogar nur sehr selten vollkommen genügt.

Es gibt jedoch ein viel bequemerer Verfahren, um stets eine genau gleiche Blutaufschwemmung zu erhalten, indem man nämlich nicht vom Blutkörperchen zentrifugat, sondern vom defibrinierten Gesamtblut ausgeht. Von manchen Untersuchern wird teils bewußt, teils aber sicher in vollständiger Verkennung der tatsächlichen Verhältnisse, eine gewaschene Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung benutzt, die die Blutkörperchen aus 5 ccm Gesamtblut enthält. Dies wäre natürlich — auch bei der Wassermannschen Reaktion — vollständig einwandfrei, wenn die übrigen Komponenten des hämolytischen Systems darauf eingestellt würden. Die Verhältnisse liegen ja bei der Komplementbindung und bei allen Hämolyseversuchen so, daß der Ausgangspunkt, die 5-proz. Blutkörperchenemulsion, eine konventionelle Größe ist, nach der sich die angewendete Hämolysin- und Komplementmenge zu richten haben; wie weit dies beim praktischen Arbeiten der Fall ist, werden wir weiter unten besprechen. Für die 5-proz. Blutkörperchenemulsion

paßt (wenigstens unter bestimmten nicht unwesentlichen Einschränkungen bei der Wassermannschen Reaktion) eine 10-proz. Komplementverdünnung, während diese Komplementmenge für die Hämolyse einer 5-proz. Gesamtblutverdünnung einen ganz enormen Ueberschuß bedeutet.

Will man nun an Stelle des etwas unsicheren Blutkörperchenzentrifugats vom Gesamtblut ausgehen, so muß dies nicht 5-proz., sondern etwa 11(—12)-proz. angesetzt werden. Man geht so vor, daß man 11 ccm defibriniertes Gesamtblut auf zwei oder mehr Zentrifugenröhrchen verteilt, mit beliebigen Mengen NaCl verdünnt und dreimal auswäscht. Dabei muß man die Waschflüssigkeit vorsichtig abheben, so daß nichts von den Blutkörperchen verloren geht, die nachher aus den Zentrifugenröhrchen restlos mit NaCl ausgewaschen und auf 100 ccm aufgefüllt werden. Arbeitet man mit ganz gesunden Tieren, was mit Sicherheit nur dann garantiert ist, wenn das Blut jedesmal von Schlachttieren genommen wird, so verwendet man 11 ccm Gesamtblut. Etwas anders können die Verhältnisse liegen, wenn man sich zu Hämolyseversuchen einen besonderen Hammel oder besser mehrere Tiere hält. Daß man solchen Tieren nicht für beliebig lange Zeit beliebige Mengen Blut entziehen darf, versteht sich eigentlich von selbst, und es ist sicher schon als fehlerhaftes Arbeiten zu bezeichnen, wenn es vorkommt, daß ein solches zu lange benutztes Tier an Entkräftung eingeht. Wollte man ganz exakt vorgehen, so könnte man mit Hb-Bestimmung und Blutkörperchenzählung in bestimmten Zeitabständen die fortschreitende Anämie kontrollieren, und wenn dies auch übertrieben scheinen möchte, so müssen wir doch irgendein Kriterium haben, an das wir uns in dieser Richtung halten können. Nach unserer Erfahrung tritt bei derartig übermäßig in Anspruch genommenen Hammeln ein Symptom rechtzeitig auf, das als Warnungszeichen gelten kann: das ist eine auffallend leichte und rasche Hämolysierung des defibrinierten Blutes. Solche Hammel dürfen nicht mehr geblutet werden, es wäre auch falsch, sie nach einiger Zeit der Erholung wieder zu benutzen. Bei beginnender Anämie muß man an Stelle der oben angegebenen 11 ccm Gesamtblut eventuell 12 ccm verwenden; höher zu gehen, würden wir nicht raten. Eventuell kann man von Zeit

zu Zeit kontrollieren, ob eine Verdünnung von 1 ccm gebrauchsfertige gewaschene Hammelblutverdünnung, mit 4 ccm destilliertem Wasser hämolysiert, dieselbe Färbung ergibt wie bei Verwendung des Blutes eines sicher gesunden Tieres; man kann dabei geringe Unterschiede bereits mit genügender Feinheit erkennen. Daß man unter den Reagentien auch auf die Tiere achten muß, dürfte für den Hammel nicht allgemein beachtet werden; große Gefahren läuft man bei Außerachtlassung dieser Vorsichtsmaßregeln wohl nicht, und es können hierbei nie solche Fehler entstehen, als wenn man z. B. einem Meerschweinchen wiederholt Blut zur Komplementgewinnung entzieht, was als wesentliche Abweichung von der Originaltechnik und ohne Titrierung als unbedingt fehlerhaft anzusehen ist, worauf wir weiter unten noch eingehen werden.

Soll mit Formol konserviertes Hammelblut verschickt werden, so empfiehlt es sich, die Flaschen möglichst bis zum Stopfen zu füllen, da das Schütteln während des Transports das Auftreten von Hämolyse begünstigt.

Spielt die Konservierung des Hammelblutes für viele Laboratorien, die sich keinen eigenen Hammel halten können, schon eine erhebliche Rolle, so ist die Frage der Konservierbarkeit des Komplements in gewissem Sinne noch von erheblicherer Bedeutung, da dies von allen Reagentien sowohl das kostspieligste ist, als auch das, das dem Verderben am leichtesten ausgesetzt ist. Für Laboratorien mit großem Betrieb spielt dies keine so erhebliche Rolle, da hier der an einem Tag gewonnene Vorrat meist restlos aufgebraucht werden kann. Aber für kleinere Laboratorien und auch für die Restbestände größerer wäre eine einwandsfreie Konservierung sehr erwünscht; angenehm bei der Konservierung ist auch besonders der Umstand, daß man stets gebrauchsfertiges Komplement zur Verfügung hat. Sind nun auch gute Methoden der Komplementkonservierung schon seit langer Zeit bekannt, so ist diese Abweichung von der Originalmethodik sicher bei kritikloser Anwendung die Ursache vieler Fehler bei Anstellung der Wassermannschen Reaktion gewesen und ist es noch heute.

In den ersten Jahren der Wassermannschen Reaktion erfreute sich der „Frigo“ einer großen Beliebtheit für die Konservierung von Kom-

plement; in den Laboratorien, die wir kennen lernten, wurde damals das so konservierte Komplement restlos aufgebraucht, gleichgültig, wie lange es aufbewahrt war. Als Probe für die Brauchbarkeit wurde angesehen, daß die 10-proz. Verdünnung im hämolytischen Vorversuch restlose Hämolyse ergeben hatte; dies ist ein prinzipieller Fehler, der bei der damaligen Einsicht in die quantitativen Verhältnisse bei der Wassermannschen Reaktion begreiflich erscheint, aber auch als ganz besonders eindringliche Warnung dafür angesehen werden kann, welche Fehler durch anscheinend geringfügige Abweichungen von der Originaltechnik bedingt werden können, wenn die betreffenden Verhältnisse nicht als der Erkenntnis hinreichend durchsichtig angesehen werden können, welchem Standpunkt man heute immerhin erheblich näher gekommen ist.

Neben der Frigokonservierung erfreut sich heute — mit Recht — die Konservierung des Komplements durch Zugabe konzentrierter Kochsalzlösung großer Beliebtheit. Am bequemsten hat sich uns die Verwendung einer 24-proz. Kochsalzlösung erwiesen, von der 0,3 ccm auf 1 ccm Meerschweinchenserum zugegeben werden, die Mischung wird im Eisschrank aufbewahrt; füllt man 1,3 ccm dieses gesalzenen Komplements mit destilliertem Wasser auf 10 ccm auf, so erhält man eine 10-proz. Verdünnung von Meerschweinchenserum mit dem Kochsalzgehalt einer physiologischen Kochsalzlösung.

Die konservierende Wirkung des Zusatzes konzentrierter Kochsalzlösung ist teils in der Hemmung von Bakterienwachstum zu sehen, teils aber in der Hemmung autolytischer Vorgänge, ganz allgemein gesagt, die auch in sicher sterilem Serum, und ganz besonders stark im Meerschweinchenserum vor sich gehen, das so wie in vielen anderen Punkten auch in dieser Hinsicht eine ganz einzigartige Stellung unter den meisten anderen Tierseren einnimmt. Diese autolytischen Vorgänge im Serum, speziell auch was den Eiweißanteil betrifft, lassen sich einwandsfrei chemisch nachweisen, ebenso ihre Hemmung durch NaCl in möglichst geringem Volumen; daß dies mit der Konservierung des Komplements durch NaCl in Zusammenhang stehen muß, scheint uns dadurch bewiesen, auch ganz abgesehen davon, daß das Komplement eventuell nicht eiweißartiger Natur zu sein braucht, daß Komplement gebunden wird durch das Auftreten gewisser Spaltungsprodukte des Eiweißes bei dessen fermentativem Abbau. Auf die Experimente und Deduktionen von Mandelbaum (Neue Beobachtungen über Komplemente und deren Bedeutung, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 23, p. 1038) wollen wir hier nicht im einzelnen eingehen, wenn wir auch gleich hier

betonen wollen, daß seine praktischen Schlußfolgerungen in Richtung auf eine Verfeinerung der serologischen Luesdiagnose uns zum mindesten noch nicht genügend fundiert erscheinen, und auch, ganz allgemein genommen, das Bedürfnis in dieser Richtung nur durch eine Verkennung der eigentlichen Verhältnisse bei der serologischen Luesdiagnose bedingt scheint.

Zwei Punkte in den Ausführungen Mandelbaums scheinen uns, soweit es für das vorliegende Thema von Interesse ist, einer Korrektur bedürftig. Wir haben erstens soeben ausgeführt, daß wir den Komplementschwund bei Aufbewahrung von Meerschweinchenserum auf das Auftreten von „antikomplementären“ Stoffen zurückführen, vermutlich bestehend in fermentativen Eiweißspaltprodukten, sei es nun daß dieselben durch eine bakterielle Zersetzung oder durch Serumautolyse entstehen.

Mandelbaum dagegen glaubt, aus einem seiner Versuche den entgegengesetzten Schluß ziehen zu können, wie wir gleich zeigen werden, zu Unrecht. Er schreibt p. 1040 wörtlich:

„Um zu prüfen, ob es sich bei denjenigen Seren, die ihren Komplementgehalt über Nacht bei Eisschranktemperatur verlieren, um die Bildung von antikomplementären Stoffen während dieser Zeit handle, mischte ich $\frac{1}{2}$ ccm dieses komplementlos gewordenen Serums mit $\frac{1}{2}$ ccm frischen komplementhaltigen Normalserums, stellte die nötigen Verdünnungen her und setzte die oben angegebene Menge roter sensibilisierter Hammelblutkörperchen zu. Dieser Hämolyseversuch kam auf $\frac{1}{2}$ Stunde in den Brutofen; nach dieser Zeit war die Hämolyse genau so erfolgt, als wenn ich statt des $\frac{1}{2}$ ccm komplementlos gewordenen Serums $\frac{1}{2}$ ccm physiologischer Kochsalzlösung hinzugesetzt haben würde. Es handelte sich also beim Verschwinden des Komplementes in den obenerwähnten Seren nicht um die Bildung von antikomplementären Stoffen.“

Die Schlußfolgerung in dem zuletzt wiedergegebenen Satze beruht auf einer vollständigen Verkennung der quantitativen Verhältnisse bei der Komplementbindung. Nehmen wir an, wir hätten eine positive Komplementbindungsreaktion zwischen einem Ambozeptor und entsprechendem Antigen, die also zur Bildung „antikomplementärer Stoffe“ führen, d. h. zu Stoffen, die Komplement unwirksam machen. Wieviel Komplement bei einer derartigen Reaktion gebunden wird, hängt von den jeweiligen Mischungsverhältnissen ab, beträgt

27*

aber eine genau quantitativ bestimmbare Größe: a für jeden einzelnen Fall.

Wenn also in dem Reaktionsgemisch nur a Komplement vorhanden ist, so wird eine komplette Hemmung der Hämolyse eintreten.

Diese Hemmung wird aber — trotz des nachweisbaren Vorhandenseins antikomplementärer Stoffe — nicht mehr in Erscheinung treten können, sowie im Reaktionsgemisch $a +$ so viel Komplement vorhanden ist, als zur Hämolyse einer bestimmten Menge Blutkörperchen nötig ist, was wir als Komplementeinheit bezeichnen.

Die Annahme von Mandelbaum wäre nur auf Grund der irrigen Vorstellung zu begründen, daß in einem Reaktionsgemisch, das zum Auftreten antikomplementärer Stoffe führt, nicht eine quantitativ bestimmbare, sondern jede beliebige Menge zugesetzten Komplements gebunden wird, was natürlich nicht der Fall ist.

Die Versuchsanordnung Mandelbaums ist demnach keineswegs geeignet, die Schlüsse zu rechtfertigen, die er aus seinen Versuchen zieht, vorläufig scheint uns demnach auch die Benennung neuer Serumstoffe als „Socine“ als etwas verfrüht.

Was nun seine praktischen Schlußfolgerungen aus der Bestimmung des Komplementschwundes betrifft, die wir uns zwanglos durch Veränderungen im Grade der Serumautolyse erklären können, so ist es immerhin auffällig, daß diese Mandelbaumsche Reaktion sich gerade bei sehr schweren chronischen Tuberkulosen, Scharlach in der Rekonvaleszenz, und in 65 Proz. der positiven Fälle bei Luetikern findet. In welcher Breite „positiver Komplementbindung“ sich diese Fälle gerade vereinigt finden, werden wir noch ausführlich zu besprechen haben, wir können nur hier schon vorwegnehmen, daß sich die gleichen Ergebnisse sicherer und in einer dem Verständnis vollkommen ausreichenden Weise mit der Methodik der Wassermannschen Reaktion darstellen lassen.

Wir wollen uns hier mit der sichergestellten Tatsache beschäftigen, daß es möglich ist, im Frigo oder mit einfacheren Mitteln auch durch Kochsalzzusatz das im Meerschweinchen-

serum enthaltene Komplement für eine gewisse Zeit ohne nachweisbare Schädigung zu konservieren. Ebenso sicher ist aber auch die Tatsache, daß das Komplement bei beiden Konservierungsverfahren in absehbarer Zeit verdirbt, und was das Wichtigste ist, daß es bereits verdorben sein kann, wenn der hämolytische Vorversuch noch eine komplette Lösung des zugesetzten Hammelblutes ergeben hat. Dasselbe ist der Fall, wenn einem Meerschweinchen wiederholt Blut entzogen wird: das Wasser des Serums ersetzt sich bald wieder und wir haben ein Serum von unbekanntem Komplementgehalt vor uns.

Um diese Verhältnisse gänzlich zu übersehen, müssen wir die quantitativen Verhältnisse, in denen das Komplement zum Hämolsin steht, genauer besprechen.

Als erster Hauptsatz kann nach unzähligen Versuchen gelten, daß das Serum gesunder Meerschweinchen frisch nach Entnahme einen ganz konstanten Komplementgehalt besitzt, was ebenso für das menschliche Serum gilt. Wenn manche Untersucher dem entgegengesetzte Resultate erhalten haben wollen, so liegt das lediglich an der inkonstanten Blutemulsion, die sie verwendet haben. Für die Versuche von Sormani, der stets ein Arbeiten mit titriertem Komplement wegen dessen Inkonstanz verlangt, läßt sich das ohne weiteres nachweisen. Kleinere Abweichungen, wie sie dieser Autor durch „Interpolation“ feststellen will (es handelt sich dabei um Differenzen von $\frac{1}{4}$ Proz.), sind für den Ausfall der Wassermannschen Reaktion gänzlich belanglos, und es handelt sich dabei nur um einen spielerischen Schein von extremer Exaktheit.

Zweiter Satz: Nimmt man für Hämolyseversuche vier Ambozeptoreinheiten (die einfach lösende Dose, mit 10-proz. Meerschweinchenserum festgestellt), so genügt zur kompletten Lösung einer 5-proz. Hammelblutkörperchenemulsion eine (2,5—)3-proz. Meerschweinchenserumverdünnung. Bezeichnet man dies als Komplementeinheit, die also zur Hämolyse vollkommen ausreicht, so sehen wir, daß wir bei den meisten Versuchen mit 3—4 Komplementeinheiten arbeiten und, wie wir gleich hinzufügen wollen, auch arbeiten müssen.

Da nun frisches Komplement als konstant angesehen werden kann, so genügt es, im hämolytischen Vorversuch die eventuellen Veränderungen des Hämolysins festzustellen und diesen Rechnung zu tragen; es ist hierbei nicht nötig, was wir ja auch tatsächlich bei dieser Versuchsanordnung nicht getan haben, den Komplementtiter zu bestimmen.

Ganz anders liegt die Sache aber, wenn wir feststellen wollen, ob aufbewahrtes Meerschweinchenserum nichts von seinem Komplementgehalt eingebüßt hat; dann genügt der einfache Hämolysinversuch nicht, sondern es muß festgestellt werden, wieviel Kubikzentimeter Meerchweinchenserum eine Komplementeinheit enthalten. Wollen wir aber feststellen, ob ein aufbewahrtes Serum noch seinen ursprünglichen Komplementgehalt besitzt, so können wir dies einzig und allein auf die Weise, daß wir nachweisen, daß eine 3-proz. Verdünnung noch zur kompletten Hämolyse einer 5-proz. Hammelblutkörperchenemulsion genügt, natürlich unter der oben gegebenen Voraussetzung der Verwendung von vier Ambozeptoreinheiten (bezogen auf 10-proz. Komplement).

Da sich Ambozeptor und Komplement in gewissen engen Grenzen gegenseitig ersetzen können, so können wir durch einen Ueberschuß von Ambozeptor noch mit 3-proz. Meerschweinchenserum Hämolyse erzielen, selbst wenn der Komplementgehalt schon etwas abgefallen wäre. Die Ambozeptoreinheit kann man nun nur mit frischem Meerschweinchenserum exakt feststellen, doch kann man dann, bei Aufbewahrung im Eisschrank, für mindestens einige Tage, d. h. solange eine Aufbewahrung von Komplement überhaupt in Frage kommt, mit einer genügenden Konstanz des hämolytischen Titors rechnen. Nehmen wir also vier derartig bestimmte Ambozeptoreinheiten, so muß eine 3-proz. Meerschweinchenserumverdünnung komplette Hämolyse ergeben, wenn der ursprüngliche Komplementgehalt voll erhalten sein soll; dies ist nun regelmäßig höchstens bei einwöchiger Aufbewahrung der Fall. Nur solange diese Bedingung voll und ganz erfüllt ist, kann man damit rechnen, mit konserviertem Komplement genau dieselben Resultate zu erzielen, wie mit ganz frischem Serum; dazu gehört allerdings immer noch die zweite Voraussetzung, daß das Komplement nicht nur seine ursprüngliche

Stärke bewahrt, sondern auch in dieser Zeit keine Veränderungen in seiner „Deviabilität“ erlitten habe, d. h. daß nicht Seren trotz gleichen Komplementgehalts verschieden beim Bindungsversuch reagieren können. Nach zahlreichen Vergleichsuntersuchungen glauben wir mit Sicherheit behaupten zu können, daß die oben gegebene Prüfung des Komplements genügt, und daß Veränderungen der Bindungsfähigkeit nicht auftreten; wir möchten an dieser Stelle auch gleich darauf hinweisen, daß wir Differenzen in der „Deviabilität“ oder einfacher gesagt: Bindungsfähigkeit, bei frischem Meerschweinchenserum, wie sie von manchen Autoren behauptet werden, trotz ausgedehnter darauf gerichteter Untersuchungen nie feststellen konnten.

Bei unserer oben gegebenen Prüfung schließen wir Seren, deren Komplementgehalt nachweisbar gefallen ist, von der Verwendung für die Wassermannsche Reaktion aus, obwohl zugegeben werden muß, daß die Möglichkeit gegeben wäre, auch Seren zu verwenden, die nicht mehr in 3-proz. Verdünnung komplette Hämolyse ergeben, nur müßte man dann konsequenterweise im eigentlichen Versuch nicht 10-proz. Meerschweinchenserum, sondern eine höhere Konzentration verwenden. Wir haben Versuche mit solchen Seren angestellt, deren Komplementtiter bereits gefallen war, und haben die Konzentration für die eigentliche Wassermannsche Reaktion nach den unten auseinandergesetzten Gesichtspunkten bestimmt. Selbst wenn wir 15—20-proz. Serumverdünnungen gebrauchen mußten, sahen wir in allerdings nicht allzu großen Versuchsreihen keine merklichen Differenzen gegenüber frischem Serum; es scheint die höhere Serummenge demnach nicht störend zu wirken, immerhin möchten wir von einem derartigen Verfahren entschieden abraten. Wir sind mit dem Wesen der Wassermannschen Reaktion so wenig vertraut, daß man lieber auf solche Abweichungen verzichten soll; doch besteht wohl kaum eine wesentliche Abweichung, wenn man sich durch den oben gegebenen Vorversuch überzeugt hat, daß das Serum noch seinen ursprünglichen Komplementgehalt besitzt.

Um berechnen zu können, welche Verdünnung von Komplement man in dem Falle verwenden müßte, wo der Komplementtiter nach Aufbewahrung bereits gefallen ist, müssen

wir hier erst auseinandersetzen, inwiefern im eigentlichen Versuch bei der Wassermannschen Reaktion 10-proz. Meerschweinchenserum verwendet wird, und — was wir besonders betonen — auch verwendet werden muß, obwohl zur Hämolyse 3-proz. Komplement genügt. Ein Exkurs in die historische Entwicklung der Wassermannschen Reaktion dürfte hier nicht unangebracht sein.

Abgesehen vom allgemeinen Uebergang von wässerigen zu alkoholischen Luesleberextrakten, ist in den Vorschriften zur Technik der Wassermannschen Reaktion von A. v. Wassermann selbst, trotz einer nicht unansehnlichen Anzahl von „Verbesserungsvorschlägen“, nur eine wesentliche Veränderung vorgenommen worden, das ist die Vorschrift, daß die Gebrauchsdose des Extraktes mit 10-proz. Meerschweinchenserum keine Hemmung zeigen darf, während in der Entstehungszeit der Reaktion verlangt wurde, daß die doppelte Menge der Gebrauchsdose „keine Eigenhemmung zeigen dürfe“. Diese Aenderung in der Originalmethode ist nur historisch begründet, d. h. sie verdankt nicht einer Meinungsänderung des Autors der Reaktion ihre Entstehung, sondern die erste Vorschrift war nur gegeben worden, um den Streit um dem sogenannten „Summations-einwand“ jede Unterlage zu nehmen. Dieser Streit wurde von der Gegenseite nicht immer mit allzu großer Sachlichkeit geführt, und wir brauchen hier nicht näher darauf einzugehen, da er in sich selbst zerfallen ist und außerdem heute kein theoretischer Einwand mehr imstande wäre, die praktische Zuverlässigkeit der Wassermannschen Reaktion in Frage zu stellen, worauf es ja allein ankommt.

Analysieren wir nun die Bedeutung der ursprünglichen Vorschrift, daß die doppelte Menge der Extraktgebrauchsdose „keine Eigenhemmung“ zeigen darf, wie man sich ja gewöhnlich ausdrückt, so liegt ein Grund zu Mißverständnissen vor allen Dingen in der irrtümlichen Bezeichnung dieses Phänomens, denn wie wir gleich sehen werden, hat jede Extrakt-dose „Eigenhemmung“.

Um exakt festzustellen, ob eins der beiden bei der Komplementbindung verwendeten Reagentien: das zu untersuchende Serum und das entsprechende Antigen, „Eigenhemmung“ zeigt, darf man im hämolytischen System nicht 10-proz. Meerschweinchenserum verwenden.

Um „Eigenhemmung“ im eigentliche Sinne (der gewöhnliche Sprachgebrauch verwechselt damit häufig Hemmung bei Verwendung von 10-proz. Meerschweinchenserum) festzustellen,

dürfen wir nur die „hämolytische Einheit“ verwenden, d. h. bei Verwendung von vier Ambozeptoreinheiten 3-proz. Meerschweinchenserum. Gegenüber dieser hämolytischen Einheit sind sowohl das zu untersuchende Serum, als auch das zu verwendende „Antigen“ auf Hemmung zu prüfen. Es ist hierbei natürlich ganz gleichgültig, ob es sich um Antigene im eigentlichen Sinne handelt, also gelöste Eiweißkörper, oder um Zellsuspensionen, oder aber um die bei der Wassermannschen Reaktion gebrauchten Luesleberextrakte. Was speziell die Komplementbindung mit eiweißartigen Antigenen betrifft, so können hier die quantitativen Verhältnisse unter Umständen nach zwei Richtungen ganz anders liegen als bei der Wassermannschen Reaktion, insofern hier einmal Antigene benutzt werden können, die tatsächlich gar keine meßbare Eigenhemmung zeigen, d. h. für sich allein kein Komplement binden, z. B. stark verdünnte Lösungen von Serumeiweiß; in diesem Falle wäre eine 10-proz. Verdünnung von Meerschweinchenserum unnütz hoch. Andererseits kann aber auch die „Eigenhemmung“, besonders von Zellemlusionen, sehr hoch sein; in diesem Falle wäre es unrichtig, die „Gebrauchsdose“ innerhalb der Menge begrenzen zu wollen, die bei Verwendung 10-proz. Meerschweinchensersums keine Hemmung zeigt, sondern man kann — unter Kompensation der Eigenhemmung, d. h. eventuell Verwendung höherer Konzentrationen als 10-proz. Meerschweinchenserum — mit der Gebrauchsdose eines Antigens so hoch gehen, daß man nur in einer genügenden Entfernung von der Dose bleibt, mit der bereits normale Seren reagieren. Antigene der zweiten Kategorie sind z. B. Tuberkulin, Pockenlymphe, manche Bakterienemulsionen.

Um aber alle verschiedenen Möglichkeiten der „Eigenhemmung“ der Antigene erschöpft zu haben, müssen wir noch auf einen Punkt hinweisen, der besonders bei der Komplementbindung mit bakteriellen Antigenen eine Rolle zu spielen scheint. Ebenso wie viele Normalseren in genügender Konzentration Einwirkungen mannigfacher Art — Agglutination, Bakteriolyse, Phagocytoseförderung usw. — gegenüber verschiedenen Bakterien erkennen lassen, muß man auch annehmen, daß sie in starker Konzentration — Meerschweinchenserum wird ja 10-proz. verwendet — auch komplementbindende Stoffen ent-

halten; es wäre demnach das Phänomen der „Eigenhemmung“ in zwei Faktoren zu trennen, erstens die Einwirkung des Antigens auf das Komplement des Serums: eigentliche *Eigenhemmung*, zweitens eine Komplementbindung zwischen Antigen und den „Normalambozeptoren“ des als Komplementträger dienenden Serums. Diese letztere Tatsache läßt sich experimentell analysieren, indem man Normalambozeptoren vom Komplement trennt; hierzu ist die Hitzeinaktivierung des Komplements nicht immer geeignet, weil dabei die Normalambozeptoren nicht unbeträchtlich mitgeschädigt zu werden pflegen. Die gegebene Versuchsanordnung hierfür ist die Entfernung des Komplements aus dem Serum durch Adsorption, z. B. mit Bariumsulfat. Prüfen wir nun die „Eigenhemmung“ eines Antigens einmal nur mit frischem Meerschweinchenserum, so werden wir einen bestimmten Wert erhalten, der eventueli dadurch erhöht wird, daß in derselben Versuchsanordnung noch außerdem geringere oder größere Mengen mit Bariumsulfat inaktivierten Serums, also isolierte *Ambzeptoren*, zugegeben werden. Also auch dieser Faktor muß mit in Rechnung gezogen werden, kann aber bei der Wassermannschen Reaktion vernachlässigt werden. .

Mit der Hemmung des zu untersuchenden Serums werden wir uns weiter unten noch eingehend zu beschäftigen haben, was aber den Extrakt betrifft, so kann man sich von seiner — ausnahmslos bestehenden — *Eigenhemmung* sofort überzeugen, wenn man selbst viel kleinere Dosen, als sie jetzt durchschnittlich als Gebrauchsdosen verwendet werden, gegenüber der Komplementeinheit prüft: die vorher komplette Hämolyse wird gehemmt; beim Serum ist dies an und für sich nicht der Fall.

Verwendet man immer nur 10-proz. Meerschweinchenserum, so käme man zu der irrigen Auffassung, die üblichen Gebrauchsdosen der Luesleberextrakte hätten keine *Eigenhemmung*.

Wir sind nun wegen dieser *Eigenhemmung* der Extrakte genötigt, im eigentlichen Versuch nicht mit der Komplementeinheit (d. h. mit 3-proz. Meerschweinchenserum) zu arbeiten, sondern wir müssen eine höhere Menge verwenden, die zum mindesten diese *Eigenhemmung* der Extrakte kompensiert;

eventuell müssen wir noch eine zweite Zugabe machen, die einer Reaktion zwischen Normalserum und Extrakt entsprechen könnte.

Bestimmen wir nun in einer Versuchsreihe mit fallenden Mengen Komplement die Dose, wobei die „Gebrauchsdose“ des Antigens eben komplette Hämolyse ergibt, so sehen wir, daß bei der heute üblichen Höhe der Gebrauchsdose fast ausnahmslos die 7-proz. Meerschweinchenserumverdünnung eben komplette Hämolyse, die 6-proz. noch (eben erkennbare) Hemmung zeigt, d. h. anders ausgedrückt: die Eigenhemmung der Gebrauchsdose beträgt mehr ($\frac{4}{8}$) als eine ganze Komplementeinheit.

In jeder Mischung, in der Extrakt enthalten ist, muß also mindestens 7 Proz. Komplement enthalten sein, um komplette Hämolyse zu erzielen, was ja erforderlich ist, während im hämolytischen System allein nur 3 Proz. Komplement nötig ist. Fügen wir gleich hinzu, daß ein „Normalserum“ mit dieser Gebrauchsdose zusammen kein Komplement bindet, so können wir jetzt die Menge von 10-proz. Komplement, die bei der Wassermannschen Reaktion verwendet wird, in drei Faktoren trennen:

Zur Hämolyse des 5-proz. Hammelblutes nötig	3 Proz. ¹⁾
Eigenhemmung der Extraktgebrauchsdose	ca. 4 „
Ueberschuß	3 „
<hr/>	
Summa 10 Proz.	

Wir müssen in diesem Zusammenhang zugleich auf die „verfeinerten quantitativen Methoden“ mit Komplementtitrierung eingehen, wie sie unter anderen Autoren besonders z. B. Sormani in wiederholten Darstellungen gegeben hat, und werden diese Gelegenheit auch gleich benutzen, uns mit den „verfeinerten Methoden“ ganz allgemein auseinanderzusetzen, da sie ausnahmslos auf dem gleichen Fehler beruhen.

1) Wir weisen darauf hin, um Entgegnungen zu vermeiden, daß wir die Verhältnisse der leichteren Darstellbarkeit wegen etwas schematisiert haben, die Komplementeinheit liegt zwischen 2,5 und 3 Proz. Komplement; wir verwenden also bei der Wassermannschen Reaktion durchschnittlich vier Komplementeinheiten, auch liegt die Eigenhemmung der Extraktgebrauchsdose näher an 3 Proz.

Der Hauptunterschied zwischen der Originalmethode und den sogenannten „quantitativen“ Methoden soll auf der bei den letzteren üblichen Titrierung des Komplements beruhen. Bei unseren weiteren Ausführungen gehen wir nur von der — für uns reichlich bewiesenen — Tatsache aus, daß frisches Meerschweinchenserum einen absolut konstanten Komplementgehalt besitzt, wenn es nur zweckmäßig gewonnen und gleich verwendet wird und, was vor allen Dingen betont werden muß: wenn die Hammelblutemulsion mit der nötigen Sorgfalt gleichmäßig hergestellt wurde. Die Komplementeinheit stellt sich danach immer als 3-prozentig, die Eigenhemmung der Extrakte als 4-prozentig heraus, der „Ueberschuß“ immer als 3-prozentig. Dies Schema, auch in seinen einzelnen Faktoren, können wir auch ohne jede Komplementtitrierung als konstant annehmen, wenigstens bei Verwendung des gleichen Extraktes.

Als eigentlichen Unterschied gegenüber der Methode z. B. von S o r m a n i können wir daher nicht die „verfeinerte“ Titrierung des Komplements ansehen; sie ist tatsächlich nur eine Bestimmung der Differenzen, die bei Bereitung der Hammelblutemulsion zustande kamen; diese Komplementtitrierung ist vollkommen überflüssig, da wir bei Verwendung des gleichen Extraktes auch ohnedem ganz genau wissen, wie unser Komplement eingestellt ist, sondern der hauptsächliche Unterschied der Methode von S o r m a n i liegt darin, daß er den „Ueberschuß“ von 3 Proz. Komplement wegläßt und der Ansicht ist, dadurch mehr positive Resultate zu erhalten (die aber einwandfrei wären), als bei Anwendung der Originalmethode. Die schlechten Erfahrungen, die S o r m a n i mit der Originalmethode erhalten haben will, paradoxe Reaktionen und 9 Proz. negative Reaktionen bei manifesten Symptomen (Dermatolog. Wochenschr., Bd. 62), dürften wohl wenige Kenner der Wassermannschen Reaktion geneigt sein, als Versager der Originalmethode hinzunehmen; schließlich gibt es doch eine Grenze, bis zu welcher man Fehler, die durch eine falsche Extrakttitrierung bedingt sind, der Originalmethode zur Last legen darf¹⁾.

1) Auf die übrigen Differenzpunkte der Sormanischen Methode: Verwendung von 10 Ambozeptoreinheiten etc., gehen wir hier nicht näher

Diese Behauptungen beruhen auf Irrtum, und ebenso ist es ein Irrtum, zu glauben, man erhielte feinere, aber immer noch zuverlässige Resultate, wenn man bei der Wassermannschen Reaktion die Serummenge erhöhte (Kromayer), analog der Auswertungsmethode von Hauptmann für den Liquor; diese letztere Methode hat ja in gewissem Sinne ihre Berechtigung, d. h. für den Liquor, beruht aber im Grunde doch auch auf einer irrtümlichen Auffassung von dem eigentlichen Wesen der quantitativen Verhältnisse bei der Wassermannschen Reaktion, was wir eindeutig beweisen zu können glauben; damit soll natürlich keineswegs gesagt sein, daß die Methode nach Sormani und das Hauptmannsche Verfahren falsch seien, aber sie bedeuten keine Verfeinerung der Originalmethode.

Ist demnach nach unseren Ausführungen eine jedesmalige Titrierung des Komplements — seiner Konstanz wegen — zum mindesten überflüssig, wenn nicht gar bei der großen Mehrzahl nicht sehr geübter Untersucher gefährlich, so bleibt immer noch ein Unterschied zwischen der Originalmethode und Sormani, d. h. daß letzterer den Komplementüberschuß wegläßt und dadurch verfeinerte Resultate erzielen will.

Um diesen Unterschied richtig bewerten zu können, müssen wir uns darüber klar werden, wodurch eigentlich noch positive Resultate, die dennoch einwandfrei sein sollen, erzielt werden können, innerhalb der Methode der Wassermannschen Reaktion, wir werden gleich erkennen, daß diesen ganzen Bestrebungen, wo immer sie auch einsetzen mögen, ein Denkfehler zugrunde liegt.

ein, da sie uns unwesentlich erscheinen und ihnen die Bedeutung nicht zukommt, die ihnen der Autor beilegt. Wir wollen hier gleich, um Mißverständnissen vorzubeugen, darauf hinweisen, daß uns nichts ferner liegt, als eine Polemik gegen die Methode von Sormani in all ihren Einzelheiten, wir greifen diese Methode unter anderen nur als Typ heraus, die mit genau titriertem Komplement arbeitet, eine Methode, die auch schon vor den zahlreichen Veröffentlichungen von Sormani über diesen Punkt üblich war, und weil bei manchen Lesern, die die Verhältnisse nicht genau kennen, durch die Sormanischen Veröffentlichungen der Eindruck erweckt werden könnte, als könnte man nur mit seiner Methode einwandfreie Resultate erhalten, und als wäre die gesamte Versuchsanordnung der Originalmethode „logisch falsch“.

Die Methode der Wassermannschen Reaktion war bisher mit einem unbedingt subjektiven Moment behaftet, d. i. die Einstellung der Extrakte. Es ist nicht möglich, wie bei einer chemischen Reaktion zu beweisen, dieser Extrakt ist zu schwach und dieser zu stark eingestellt, sondern eine richtige Einstellung der Extrakte ist Erfahrungssache, die nur in langem Konnex mit der Klinik festgestellt werden kann, und dann je nach der größeren oder geringeren Vorsicht der verschiedenen Untersucher auch zu verschiedenen Extraktstärken führen muß. Diese einmalige Einstellung eines Standardextraktes ist, wie gesagt, stark subjektiv, während, wenn diese Stärke einmal bei einem Extrakt festgestellt ist, es leicht fällt, fortlaufend alle weiter benutzten Extrakte so einzustellen, daß sie mit einem „Standardextrakt“ vollkommen übereinstimmen¹⁾).

Es ist ein Irrtum, zu glauben, es gäbe positive und negative Resultate an sich; sondern es gibt eine Reihe, deren Extreme einmal das „absolut normale“ und auf der anderen Seite das „stark positive“ Serum sind, dazwischen liegt eine kontinuierliche Reihe sämtlicher Abstufungen, und es ist Sache eines gewissen Taktes, die Grenze zu ziehen, von wo ab man die Reaktion so bewerten will, daß man auf die Sero-diagnose allein hin, ohne jede klinischen Daten, die

1) Praktisch sind dem gewisse Grenzen gesetzt, die aber fast vollkommen vernachlässigt werden können. Bei der Notierung der Extraktgebrauchsdose, wie sie z. B. bei Abgabe von Antigenen aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie, Dahlem, für Heereszwecke vorgenommen wird, ist es üblich, entsprechend der Voraussetzung, daß mit halben Dosen gearbeitet wird, die Angabe der Extraktdose auf zwei Dezimalstellen zu beschränken; so heißt z. B. Gebrauchsdose 0,09, daß der Extrakt in 18-proz. Verdünnung angewendet werden soll. Dieses absolute Maß wäre ja eigentlich auch der konventionellen, auf halbe Dosen bezüglichen Notierung vorzuziehen. Es kommt selbstverständlich vor, daß die eigentliche Dose nicht 0,09 ist, sondern um 0,95 herum liegt, welche Notierung aber wegen der Schwierigkeiten der Abmessung vermieden wird; es wird dann die Extraktdose gewählt, die der Standardstärke am nächsten liegt, also entweder 0,09 oder 0,10. Nach unserer Erfahrung sind die Differenzen, die durch diese eigentlich falsche Notierung erzeugt werden können, so klein, daß sie wohl in einem kleinen Prozentsatz der Fälle eben merkbar werden, aber niemals zu groben Differenzen zwischen zwei Extrakten führen können.

Diagnose Lues stellen will, nicht aber genügt es, nur eine Abweichung vom Typus des Normalserums festzustellen. Zwischen dem extrem normalen und dem extrem positiven Serum gibt es nun nicht nur quantitative, sondern direkt qualitative Unterschiede, so daß die Linie zwischen den beiden Extremen einen positiven und negativen Teil, und demnach auch einen Nullpunkt hat; der Nullpunkt entspricht aber keineswegs der Grenze zwischen **positiven und negativen Reaktionen**. Können wir diese Behauptung, betreffend die Bewertung des „Nullpunktes“, beweisen, so ist damit auch der Beweis geliefert, daß es falsch ist, bei der Wassermannschen Reaktion jeglichen Ueberschuß an Komplement wegzulassen.

Das Wesen einer positiven Reaktion besteht darin, daß ein Serum in 20-proz. Verdünnung mit der Gebrauchsdose des Extraktes Hemmung der Hämolyse erzielt, dies heißt, auf unser Thema bezogen, daß es 6 Proz. Komplement = 2 Einheiten bindet; es sind nur 6 Proz. Komplement von den vorhandenen 10 Proz. zur Hämolyse verfügbar, da 4 Proz. durch die Extrakteigenhemmung verbraucht werden. Ein stark positives Serum zeigt diese Reaktion in viel stärkerer Serumverdünnung, bis über 1:200 gegenüber 1:5 bei der Originalmethode; die Stärke der Reaktion läßt sich also ausdrücken in der geringsten Serumkonzentration, bei der noch eine Hemmung der Hämolyse erzielt wird, es gibt aber noch zwei andere Möglichkeiten, die Stärke der positiven Reaktion auszudrücken. Je stärker ein Serum reagiert, um so geringer ist die Extraktmenge, mit der noch Hemmung der Hämolyse erzielt wird, um so größer ist die Komplementmenge, die unwirksam gemacht werden kann; bei stark positiven Seren kann noch Hemmung erzielt werden, selbst wenn wir 20-, 30- bis 100-proz. Meerschweinchenserum statt des 10-proz. verwenden. Bleiben wir einmal bei der zuletzt gewählten Bestimmung, so wird die Stärke einer positiven Reaktion ausgedrückt durch die Menge Komplement, die 20-proz. Serum mit der Gebrauchsdose des Extraktes zusammen bindet. Wir können demgegenüber auch bei den negativen Seren verschiedene Grade der „Negativität“, wenn man so sagen darf, feststellen.

Um in einem Reaktionsgemisch, das die Gebrauchsdose des Extraktes enthält, komplette Hämolyse zu erzielen, braucht man nach unserem Schema 7-proz. Komplement. Gibt man nun noch Serum dazu und erhält wieder komplette Hämolyse, so wird man dies als ein negatives Serum bezeichnen, doch gibt es immerhin noch höhere Grade der „Negativität“; man kann in dem Falle davon sprechen, wenn durch Zugabe eines Normalserums nicht nur die Hemmung des Gemisches nicht vermehrt, sondern die Eigenhemmung des Extraktes sogar teilweise aufgehoben wird; als Beispiel möge ein Serum dienen, das mit der Gebrauchsdose und 6-proz. Komplement komplette Hämolyse ergibt, während der Extrakt allein dazu nicht weniger als 7 Proz. bedarf. Wir kommen nach Darstellung dieser Verhältnisse, die den meisten Erfindern quantitativer Methoden entgangen zu sein scheinen, zu folgender graphischen Darstellung des graduellen Unterschiedes zwischen extrem negativen und extrem positiven Seren (siehe p. 421).

Zum eigentlich negativen Teil links vom Nullpunkt zählen nur die Seren, die die Eigenhemmung des Extraktes herabsetzen oder doch wenigstens nicht erhöhen. Wir nennen sie „absolut normale“ Seren, ihre Grenze ist da zu suchen, wo der Zusatz von Serum zu der Mischung von Extrakt und Komplement zur kompletten Hämolyse nicht mehr als 7 Proz. verbraucht; wir sehen demnach, daß bereits innerhalb dieser Breite merkliche Differenzen in der „Negativität“ des Resultates bestehen ¹⁾.

1) Ein gutes Mittel, um sich diese Verhältnisse, auch ohne Komplementtitrierung, vor Augen zu führen, bieten Extrakte mit Cholesterinzusatz nach Sachs. Gibt man zu Herzextrakten, die etwa im Verhältnis von 1 Teil feuchter Herzsubstanz zu 50 Teilen Alkohol hergestellt sind, einen Zusatz von 1 Prom. Cholesterin, so zeigen derartige Mischungen auch bei Verwendung von 10-proz. Komplement merkbare „Eigenhemmung“. Wir wollen gleich darauf hinweisen, daß dies längst nicht in dem Maße der Fall ist, wenn man nach der Vorschrift von Sachs Herzextrakte 1:5 mit der gleichen Menge Cholesterin versetzt. Diese cholesterinierten Extrakte (1:50) mit Eigenhemmung geben trotzdem — in gewissem Sinne — richtige Resultate, indem nämlich normale Seren komplette Hämolyse ergeben. Diese Verhältnisse erscheinen uns immerhin als ein Fingerzeig dafür, daß die Verstärkung von Normalextrakten durch Cholesterinzusatz

Bei 10 % Komplement komplette Hämolyse. Negative Reaktion		Bei 10 % Komplement Hemmung der Hämolyse			
„Absolut normale“ Seren mit „negativer Komplementbindung“		zweifelhafte Reaktion Hemmung ±---++		positive Reaktion Hemmung ++++, mindestens aber +++	
		Breite der positiven Komplementbindung (nicht + Reaktion)			
		unspezifische Bindung ¹⁾ Tbc. Ca.	Lues + Protozoenerkrankungen	Breite, wo Protozoen- erkrankungen unwahr- scheinlich sind	„Metals“
		Scharlach			
		Lueseren in der ganzen Breite vom „absolut normalen“ bis zur stärkst positiven Reaktion			
		Nullpunkt			
		Lueseren ²⁾ , die inaktiv negativ, aktiv + reagieren			
1) Komplement 5 %	6 %	7 %	8 %	9 %	10 %
				20 %	30 %
					100 % →

1) Komplement 5 % etc. soll heißen, daß 5 % die Minimaldosis darstellt, bei der bei der Reaktion mit Extrakt noch komplette Hämolyse erzielt wird.

2) Nicht zu verwechseln mit unspezifischer Reaktion.

3) Wenn Vertikallinien nicht bis auf die Horizontale durchgezogen werden, so soll dies bedeuten, daß die Grenze bis zu einem gewissen Grade willkürlich angenommen ist.

Untersucht man nun Seren von Erkrankungen, die mit länger dauerndem Fieber und mit Konsumtion verlaufen, wie z. B. Tuberkulose und Carcinom, so kann man mit Hilfe der quantitativen Methoden feststellen, daß sie bei gleicher Extrakt-dose anders reagieren, als die „absolut normalen“ Seren; während diese mit 7-proz. Komplement, oder weniger, komplette Hämolyse geben, brauchen derartige Seren eventuell 8-proz. Komplement, d. h. es tritt eine Reaktion zwischen Extrakt und Serum ein, die zu einer Bindung von Komplement führt, es wäre aber grundfalsch, dies als positive Wassermannsche Reaktion zu bezeichnen; mit anderen Worten: wir befinden uns hier bereits im Bereich der positiven Komplementbindung, die mit der positiven Wassermannschen Reaktion nicht identisch ist. Im Uebersehen dieser Tatsache bei Methoden ohne „Komplementüberschuß“ sehen wir einen prinzipiellen Fehler.

In den gleichen Bereich fallen nun aber auch ein Teil von Seren von sicherluetischen Patienten; dies ist praktisch deshalb von Bedeutung, weil derartige Seren, bei Unkenntnis der eben geschilderten Verhältnisse, Veranlassung geben können zu falscher Einstellung von Extrakten. Es lassen sich immer Extrakt-dosen feststellen, die mit solchen Seren, die sich von Normalseren quantitativ kaum unterscheiden, noch positiv, mit absolut normalen Seren negativ reagieren. Man kommt demnach auf die Vermutung, daß diese „zu hohe“ Extrakt-dose „feinere Resultate“ ergibt, die trotzdem sicher sein sollen, weil diese Resultate ja mit den Seren von sicher Luetischen

hauptsächlich in einer Verstärkung der Eigenhemmung zu suchen ist; das Prinzip, Extrakte möglichst „stark“ herzustellen, muß nun unbedingt als richtig anerkannt werden, wenn man die Wassermannsche Reaktion möglichst von irgendwie unspezifischen Reaktionen reinigen will. Wir verstehen darunter die Tatsache, daß ein Extrakt in geringer Konzentration (z. B. 14-proz.) gleich starke Reaktion mit dem gleichen Serum ergibt, wie ein anders hergestellter Extrakt in viel stärkerer Konzentration (z. B. 24—26 Proz.). Diese Forderung leiten wir aus der Tatsache her, daß Seren mit verdünntem Alkohol, z. B. 30-proz., Komplementbindungen geben können, die ganz unregelmäßig ohne jeden Zusammenhang mit dem Ausfall der Wassermannschen Reaktion auftreten. Wir würden demnach die Verwendung von Extrakten, die z. B. erst in 30-proz. Verdünnung (0,15) genügend positive Resultate ergeben, für direkt unzulässig erklären.

erzielt wurden. Dies ist, wie wir eben gezeigt haben, ein Irrtum, denn es gibt — deutlich unterschieden von Normalseren — eine Breite der positiven Komplementbindung, in die die sogenannten unspezifischen Bindungen fallen. Ein Extrakt muß also so eingestellt sein, daß diese Breite sicher von der Diagnose: positive Wassermannsche Reaktion ausgeschlossen bleibt¹⁾. Wir wollen nun erst die graduell

1) Will man ohne Komplementtitrierung und ohne Verwendung verschiedener Extrakt Dosen diese Abweichung vom normalen Verhalten noch feststellen, so empfiehlt es sich, sämtliche Seren in aktivem und inaktivem Zustande zu untersuchen. Früher faßte man die Bedeutung der „Inaktivierung“ meist falsch auf, indem man glaubte, daß der Zweck der Inaktivierung lediglich die Beseitigung des im Menschenserum vorhandenen, als inkonstant angenommenen, hämolytischen Komplements sei. Der Unterschied aber, der häufig im Ausfall der Reaktion zu beobachten ist, je nachdem man mit „aktiven“ oder „inaktiven“ Seren arbeitet, liegt nicht im differenten Komplementgehalt, danach wäre ja bei aktiven Seren durch das Plus an Komplement eher eine Verschiebung nach der negativen Seite hinzu verlangen, sondern er liegt in der durch Erhitzung bedingten Abschwächung des Reaktionskörpers. Diese Abschwächung ist bei jedem positiven Serum festzustellen, und scheint nach unseren Erfahrungen einen recht konstanten Prozentteil auszumachen. Falls sich dieses konstante Verhältnis zwischen thermostabilem und thermolabilem Anteil begründen ließe, wozu noch ausgedehntere Untersuchungen nötig wären, könnte man theoretisch nicht mehr behaupten, daß es falsch wäre, die Wassermannsche Reaktion mit — aktiven, oder sagen wir von jetzt ab besser: — unerhitzten Seren anzusetzen, man müßte nur die Extraktgebrauchsdose den veränderten Verhältnissen entsprechend sinngemäß herabsetzen. Daß es sich nur um Zerstörung thermolabiler Anteile des Reaktionskörpers handelt, kann man dadurch beweisen, daß mit BaSO_4 inaktivierte Seren stets noch stärker reagieren als aktive Seren, weil hier erstens die Zerstörung der thermolabilen Reaktionskörper wegfällt, und zweitens der Komplementüberschuß entfernt ist, den aktive Seren mehr haben als erhitzte.

Nach dem eben Gesagten reagieren aktive Seren stets etwas stärker als durch Hitze inaktivierte. Nehmen wir nun den Fall, daß ein Luetiker-serum gerade eben negativ reagiert, aber sich noch in den höchsten Breiten der „positiven Komplementbindung“ ohne Hemmung der Hämolyse befindet, so wird es unerhitzt positiv reagieren. Diese Differenz, daß ein erhitztes Serum vollkommen negativ und in unerhitzten Zustande + + + + reagiert, was häufig vorkommt, hat nun nichts Merkwürdiges, sowie wir uns die quantitativen Verhältnisse klar machen. Denselben Effekt: die Erzielung einer positiven Reaktion, können wir auch mit zwei verschiedenen anderen Mitteln erreichen: erstens Erhöhung der Extrakt Dose, zweitens Verwendung der eben hämolysierenden Komplementdose (7-proz.). Da

verschiedenen Stärken besprechen, die man bei Seren von sicher Luetischen feststellen kann, auf der ganzen Strecke des positiven Astes bis in den negativen hinein, um dann ein Kriterium zu finden, von welchem Grade ab man nach der Stärke der Komplementbindung, aus der Serodiagnose allein die Diagnose Lues stellen kann; denn daß diese Grenze nicht mit dem Nullpunkt zusammenfällt, haben wir eben schon bewiesen durch Aufdeckung der Tatsache, daß es unspezifische Bindung (nicht Reaktion) gibt.

Die allgemein stärksten Grade von positiver Wassermannscher Reaktion findet man ausnahmslos bei den sogenannten „metaluëtischen Erkrankungen“; exquisit trifft das z. B. zu für Paralyse und Aortenaneurisma sowie Lues congenita; ein Ausdruck für diese extrem starken Reaktionen ist auch darin zu sehen, daß sie fast ausnahmslos einer sehr energischen Therapie trotzen, d. h. derartige positive Reaktionen werden zwar regelmäßig zeitweise schwächer unter dem Einfluß spezifischer Behandlung, aber sie werden nicht negativ. Ein gewisser Verdacht auf derartige Erkrankungen läßt sich praktisch aus dem Zusammentreffen der beiden eben gegebenen Symptome aufbauen. Bei diesen Erkrankungen kann man feststellen, daß das (inaktivierte) Serum eventuell noch in einer Verdünnung von 1:250 (statt 1:5 bei der Original-

unsere Extraktdose so eingestellt ist, daß sie ohne Gefahr unpezifischer Reaktionen nicht erhöht werden darf, so trifft dasselbe auf die Herabsetzung der Komplementdose (Vermeidung des Ueberschusses von 3 Proz.) zu, beides kommt dem Verfahren gleich, mit unerhitzten Seren zu arbeiten.

Wenn wir von diesen 3 Verfahren willkürlich das Ansetzen der Reaktion mit unerhitzten Seren bevorzugen, so liegt das in einem rein äußerlichen, aber doch sehr wichtigen Grunde. Eine positive Reaktion geringsten Grades nach Sormani ist formal nicht unterschieden von den positiven Reaktionen stärksten Grades, es ist aber praktisch von großer Bedeutung, bei behandelten Luetikern auch die geringeren Grade positiver Komplementbindung zu erkennen und sie doch bei der Abgabe der Serodiagnose hinreichend so zu kennzeichnen, daß jeder weiß, daß man aus einem solchen Befunde keine Diagnose auf Lues stellt, sondern nur bei sichergestellter Diagnose Lues erkennt, daß das Serum noch nicht normal reagiert; diesen praktischen Zwecken wird wohl am besten genügt, wenn man angibt, wie das Serum auch in unerhitztem Zustande reagiert, und sich bei der klinischen Bewertung an die eben gegebenen Vorschriften A. v. Wassermanns hält.

methode) komplette Hemmung der Hämolyse ergibt, das sind die extrem positiven Fälle. Daß Seren bei 1:250 noch positiv reagieren, ist absolut nicht selten, sehr häufig finden wir Seren mit einer Stärke von 1:50 und 1:100.

Betrachten wir nun die kontinuierlichen Veränderungen, die ein Serum z. B. von einem Sekundärluetischen unter dem Einfluß einer spezifischen Behandlung durchmacht. Nehmen wir an, anfangs habe das Serum in einer Verdünnung von 1:100 komplette Hemmung ergeben, so fällt der Titer je nach den Zeitabständen der wiederholten Untersuchungen regelmäßig ab ¹⁾.

Von 1:100 fällt die Stärke der positiven Reaktion z. B. auf 1:50, 1:20, 1:10, um schließlich nur noch bei 1:5 ++++ zu ergeben; der weitere Verlauf ist dann der, daß alle Abstufungen von +++, ++, + durchlaufen werden, bis das Serum schließlich in Verdünnung 1:5 komplette Hämolyse erzielt; das Serum reagiert negativ.

Das Serum reagiert aber darum noch keineswegs wie ein absolut normales, sondern zieht man jetzt 1 Proz. Komplement ab, so genügt dies vielleicht schon, um eine Hemmung der Hämolyse zu erzielen, während ein absolut normales Serum vielleicht noch mit 6-proz. Komplement Hämolyse erzielt; diesen Abfall kann das Serum des sicher Luetischen im Anschluß an die Behandlung oder spontan im Laufe der Jahre durchmachen, es kann aber auch dauernd auf einer Zwischenstufe stehen bleiben. Die Hauptsache aus dem soeben Ausgeführten bleibt jedenfalls der Satz: es gibt einen Zustand luetischer Seren, wo sie mit Extrakt eine nachweisbare Komplementbindung er-

1) Wir haben vor Jahren bereits darauf hingewiesen, daß diesem Abfall fast regelmäßig ein gewisser Anstieg vorausgeht; daß demnach ein Serum, das in der Breite dicht vor 10 Proz. liegt (nach unserem Schema), nach Einleitung einer spezifischen Kur positiv werden kann, hat gar keine besondere Bedeutung, sondern der übertriebene Wert, den man diesem Phänomen beigelegt hat, ist durch die ungerechtfertigte Annahme einer scharfen, i. e. absoluten Grenze zwischen positiven und negativen Reaktionen bedingt, diese Grenze ist aber willkürlich; man kann mit Hilfe quantitativer Methode dies Phänomen der „biologischen Aktivierung der Wassermannschen Reaktion“ so erklären, daß es seine anscheinend besondere Stellung vollkommen verliert und auf ein allgemeines Prinzip zurückgeführt wird.

zielen, die Stärke derselben aber in dieselbe Breite fällt, wie sie bei anderen Infektionen (Tuberkulose, Carcinom etc.) auch erreicht wird. Die Grenze der positiven Wassermannschen Reaktion muß demnach erst innerhalb einer Breite gesucht werden, wo man mit absoluter Sicherheit außerhalb dieser Zone steht. Daß diese neutrale Zone noch breiter gezogen werden muß, als nur dieser einen Forderung allein entspräche, werden wir weiter unten noch ausführen.

Die ganzen Ausführungen waren unbedingt nötig, um zu einem sicheren Verständnis der sogenannten verfeinerten Methoden zu gelangen, ihre Erledigung wird danach einfach werden, da sie ganz gleich ausfällt, nach welchem verschieden erscheinenden Prinzip sie auch arbeiten mögen. Fangen wir mit den quantitativen Methoden an, Titrierung des Komplements und Vermeidung jeden Ueberschusses. Nehmen wir die Gebrauchsdose eines Extraktes, wie sie unter Anwendung der Originalmethode nach reichlicher Prüfung festgesetzt wäre; wir haben also hier nach unserer Bezeichnung mit 3 Proz. Komplementüberschuß gearbeitet. Würde Sormani für seine Methode diese Extraktdose gebrauchen, so würde er unbedingt einen gewissen Prozentsatz von falschen Resultaten erzielen, denn wir haben gesehen, daß nichtluetische Seren bereits Komplementbindung erzielen, die bei Weglassung jeden Ueberschusses an Komplement unter 7 Proz. sofort Hemmung, d. h. ein positives Resultat und zwar ein falsches ergeben.

Dies wird zwar praktisch deshalb nicht der Fall sein, weil man nach der Methode der quantitativen Komplementtitrierung bei gleicher Kontrolle der Extraktdose und der Klinik einfach zu einer niedrigeren Gebrauchsdose kommen müßte.

Es ist aber nicht einzusehen, wie auf diesem Wege mehr positive Resultate als bei der Originalmethode zu erzielen wären, die trotzdem sicher sein sollen. Es gibt nur zwei Möglichkeiten: entweder man verwendet gleich hohe Extrakt-dosen, dann kommt man in die Zone der unspezifischen Komplementbindung, oder man verwendet geringere Extrakt-dosen wie bei der Originalmethode, und dann kann man auch nicht mehr positive Resultate erzielen.

Das Gleiche gilt von der Methode Kromayer-Trinchese, höhere Serumdosen als eine Verdünnung von 1:5 zu verwenden ¹⁾. Dieser Vorschlag übersieht vollkommen, aus welchem Prinzip heraus die Originalmethode eine 20-proz. Serumverdünnung vorschreibt. Dieses ist im Reaktionssystem Serum + Extrakt die Ausgangsgröße, die konventionell ist, und nach der sich die Gebrauchsdose des Extraktes zu richten hat, ebenso wie im hämolytischen System (Hämolysin + Komplement + Hammelblut) die 5-proz. Hammelblutaufschwemmung keine notwendige, sondern eine konventionelle Größe ist.

Wir haben zwei getrennte Systeme und in jedem der beiden Systeme eine konventionelle Ausgangsgröße; die Verbindung beider Systeme zur Komplementbindungsreaktion bedingt zwar, daß diese beiden Ausgangsgrößen untereinander innerhalb einer gewissen Breite in einem notwendigen Verhältnis stehen, aber absolut gegeben ist selbst diese Beziehung nicht.

Wir könnten bei der Wassermannschen Reaktion theoretisch ebensogut von einer 10-proz. Serumverdünnung ausgehen und doch dieselben Resultate erzielen, nur müßten dann die Extraktdosen entsprechend erhöht, eventuell auch das hämolytische System verändert werden. Prüfstein für die richtigen Resultate bleibt nur die Klinik.

Haben wir nun aber in Uebereinstimmung mit den klinischen Daten unseren Extrakt auf eine 20-proz. Serumverdünnung richtig eingestellt, so dürfen wir die Serummengen nicht erhöhen, ohne wieder in die Zone der unspezifischen Bindungen zu geraten. Behauptet jemand, daß er bei der Wassermannschen Reaktion die Serummengen erhöhen darf, ohne unsichere Resultate zu erhalten, so ist dies nur möglich, wenn er seinen Extrakt zu schwach, d. h. falsch eingestellt hat, oder es läßt sich derselbe Zweck erreichen durch Untersuchung des Serums auch in unerhitztem Zustande.

Diese Beweisführung — die eigentlich gar kein Beweis ist, sondern nur mit Hilfe des Zurückgehens auf das selbstverständliche Prinzip der Methode geführt werden konnte —

1) Wir gehen nur auf diesen einen Punkt ein, da es uns nur auf Besprechung der Erhöhung der Serumdosen ankommt.

wird keineswegs widerlegt durch die beim Liquor allgemein übliche Technik der „Auswertungsmethode nach Hauptmann“, auf die das eben geschilderte Verfahren zurückzuführen ist.

Ist es selbstverständlich, daß die Gebrauchsdose des Extraktes nur so zu ermitteln ist, daß sie möglichst viele positive Resultate ergibt, die aber doch unbedingt spezifisch sein müssen, so ist es eigentlich ebenso selbstverständlich, daß diesem Postulat nicht genügt wird, wenn wir — wie es aus Bequemlichkeit allgemein üblich ist — bei der Liquoruntersuchung die gleiche Gebrauchsdose verwenden, wie bei der Serodiagnose.

Es gibt keine „Gebrauchsdose“ schlechthin, sondern die Gebrauchsdose ist für die Serumuntersuchung ermittelt, sie könnte in sinngemäßer Anwendung der Methode für den Liquor viel höher sein, als für das Serum, da die Verhältnisse im Liquor besonders infolge des so unendlich differenten Eiweißgehaltes für das Zustandekommen einer positiven Wassermannschen Reaktion ganz anders liegen. Wollte man dies Prinzip streng durchführen, so müßte man bei Liquoruntersuchungen sogar verschiedene Gebrauchsdosen entsprechend dem verschiedenen vorher festgestellten Eiweißgehalt pathologischen Liquors aufstellen ¹⁾.

Um sich diese komplizierten Feststellungen zu ersparen, kompensiert man die zu niedrige Extraktdose, deren Höhe ja auch andererseits durch die 10-proz. Komplementverdünnung begrenzt wird, wenn wir nicht hier auch noch Aenderungen vornehmen wollen — durch eine Erhöhung der Liquormengen.

Aus dem Gesagten geht wohl zur Genüge hervor, daß eine Uebertragung dieser Verhältnisse auf die Serumuntersuchung nicht in Einklang zu bringen ist mit dem Prinzip der Methode.

1) Wir behalten uns vor, eventuell an anderer Stelle näher auf diese Verhältnisse einzugehen. Hier möchten wir nur noch darauf hinweisen, daß es unseres Erachtens ebenso unzulässig ist, ohne spezielle Feststellungen die Gebrauchsdose auf die Untersuchung von Tierserum zu übertragen und schlechthin vom Vorkommen zahlreicher positiver Wassermannschen Reaktionen, z. B. bei Kaninchen, zu sprechen.

Unsere Einwände gegen die Verwendung titrierten Komplements beruhen vor allen Dingen auf der für uns reichlich bewiesenen Tatsache, daß der Komplementgehalt **frischen Meerschweinchenserums** innerhalb der Grenzen, wie wir es mit unseren Methoden feststellen können, konstant ist und daß es unzulässig ist, bei gegebener Extrakt-dose jeden Ueberschuß an Komplement wegzulassen.

Es muß nun aber innerhalb der quantitativen Verhältnisse der Wassermannschen Reaktion noch ein Moment auf das genaueste berücksichtigt werden, das wir bisher außer acht gelassen haben, nämlich daß nicht nur der Extrakt, sondern auch das Serum „Eigenhemmung“ haben könnte, und dies führt uns nach einer etwas lang erscheinenden Abschweifung auf unser engeres Thema zurück, die Konservierung der für die Wassermannsche Reaktion gebrauchten Reagentien, als deren wichtigstes innerhalb der üblichen Technik uns die Veränderungen erscheinen, die das Serum durchmacht, wenn längere Zeit bis zu seiner Untersuchung verstreicht. Wir werden bald sehen, daß die zuletzt gegebenen genauen Ausführungen über die quantitativen Verhältnisse bei der Wassermannschen Reaktion sowohl zum Verständnis unerläßlich waren, als auch ihrerseits durch dieses neue Moment wesentlich beeinflußt werden.

Als These schicken wir voraus: Menschliches Serum, $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 55° inaktiviert, hat keine Eigenhemmung, wenn es sofort verarbeitet wird¹⁾.

Bedingung hierfür ist natürlich möglichst sauberes Arbeiten, saubere Gläser (diese Bedingung wird sehr häufig außer acht gelassen, besonders in Betracht kommt auch, wenn nicht besondere Gläser für die Wassermannsche Reaktion reserviert werden, was empfehlenswert, aber schwer

1) Ausnahmen von diesem Satze mögen vielleicht vorkommen unter gewissen Verhältnissen, wo das Blut mit chemischen Noxen überschwemmt ist, sei es, daß sie von außen eingeführt sind (Narkose, Vergiftungen oder dergl.), oder daß sie bei schweren Stoffwechselstörungen auftreten (Koma verschiedenen Ursprungs). Hierbei müßte man auf Eigenhemmung im strengeren Sinne fahnden, bevor man vom Auftreten einer positiven Wassermannschen Reaktion spricht.

durchführbar ist, ob starke Säure und Alkali, das eventuell vorher in den Gläsern war, gut ausgewaschen wurde), dauern- des Stehen in gutem Eisschrank bis zur Verarbeitung. Es fragt sich nun, wie wir theoretisch genau die Eigenhemmung eines Serums bestimmen können und ob dies überhaupt möglich ist.

Wir haben schon gesehen, daß die Extraktgebrauchsdose, die nach dem gewöhnlichen Sprachgebrauch nicht hemmen soll, tatsächlich konstant eine Eigenhemmung von ca. $\frac{1}{8}$ Komplementeinheiten besitzt und daß diese Eigenhemmung bei der sogenannten „Extraktkontrolle“ nicht in Erscheinung tritt und auch gar nicht treten kann.

Was ersehen wir nun überhaupt aus der Extraktkontrolle, wenn sie, wie üblich, angesetzt wird? Wir ersehen erstens, daß innerhalb einer gewissen Breite die Hemmung unseres Extraktes nicht über ein bestimmtes Maß zugenommen haben kann, und zweitens haben wir einen gewissen, wenn auch nicht vollkommenen Einblick in unser hämolytisches System, soweit es das Komplement angeht. Ersahen wir aus dem hämolytischen Vorversuch, daß die Ambozeptoreinheit mit 10-proz. Komplement komplett löst, so sehen wir jetzt, daß vier Ambozeptoreinheiten mit 6-proz. Komplement lösen, denn 4 Proz. hat jetzt der Extrakt weggenommen. Bei vier Ambozeptoreneinheiten würden noch 3 Proz. Komplement zur völligen Hämolyse genügen, die Extrakthemmung könnte also um eine Komplementeinheit nach oben gestiegen sein, ohne daß wir es bemerkten. Praktisch spielt das keine Rolle, da die Extrakteigenhemmung unter bestimmten Bedingungen, wie wir weiter unten sehen werden, nicht schwankt. Die sogenannte Extraktkontrolle ist nach dem Gesagten vor allem eine Prüfung des gegenüber dem hämolytischen Vorversuch veränderten hämolytischen Systems, und als solche nicht gering zu veranschlagen, wenn auch nicht restlos quantitativ.

Total anders liegen aber die Verhältnisse bei Prüfung des Patientenserums auf Eigenhemmung. Vorerst muß ein Punkt erörtert werden, nämlich ob die „Gebrauchsdose“ des Serums bei der Serumkontrolle (wie ja die Serumeigenhemmungskontrolle meist genannt wird) verwendet werden

soll, analog der jetzt üblichen Verwendung der Extraktgebrauchs-dose für die „Extraktkontrolle“, oder ob, wie früher vorgeschrieben, die doppelte Serummenge im Eigenhemmungsversuch benutzt werden soll; eine Einigung in dieser Frage besteht nicht, vermutlich sind sich auch die meisten Untersucher des Unterschieds wenig bewußt gewesen; als Ausgangspunkt muß natürlich auch hier angenommen werden, daß die Vorschrift der doppelten Serummenge ursprünglich hauptsächlich zur Beseitigung des „Summationseinwandes“ gegeben wurde. Kann nun der Summationseinwand als gegenstandslos angesehen werden — der beste Gegenbeweis liegt wohl auch in den Fällen von „negativer Komplementbindung“ — so könnte man eigentlich die Serumkontrolle, ebenso wie die Extraktkontrolle mit einfacher Dose ansetzen, wie es ja in vielen Laboratorien üblich ist; trotzdem ist die Kontrolle mit doppelter Serummenge unter gewissen Bedingungen vorzuziehen, wie wir bald sehen werden.

Bei den Methoden mit konsequenter Durchführung des quantitativen Prinzips, wo aber jeder Ueberschuß von Komplement vermieden wird, kann man die Serumkontrolle ohne Zweifel einwandfrei mit der einfachen Menge ansetzen. Man muß sich dann nur darüber klar sein, daß man bei dieser Methode für die eigentliche Reaktion und die Extraktkontrolle, also in allen Röhrchen, die Extrakt enthalten, eine andere Komplementmenge (7 Proz.) benutzt als in den Serumkontrollen, wo der Extrakt mit seiner starken Hemmung fehlt; hier benutzt man sinngemäß die Komplementeinheit, d. h. eine 3-proz. Verdünnung.

Nach unseren Erfahrungen gibt nun frisches vorschriftsmäßig behandeltes Serum (am Tage nach der Entnahme) sowohl in einfacher als doppelter Menge mit der Komplementeinheit (bezogen auf 4 Ambozeptoreinheiten) niemals Eigenhemmung, d. h. das Serum ist nicht nur dem Sprachgebrauch nach, sondern der Theorie entsprechend ohne Hemmung.

Setzen wir die Serumkontrolle nun nicht mit der Komplementeinheit, sondern mit 10-proz. Komplement an, so sieht man, daß — in noch viel stärkerem Maße als bei der Extraktkontrolle — eine starke Eigenhemmung des Serums verdeckt

werden kann. Da 3 Proz. Komplement zur Lösung des Hammelblutes genügen, und wir mit einem Ueberschuß von 7 Proz. Komplement, also $\frac{7}{3}$ Komplementeinheiten arbeiten, so kann das Serum eine Eigenhemmung entsprechend $\frac{7}{3}$ Komplementeinheiten haben — einfache Serummengde vorausgesetzt — und trotzdem zeigt die Serumkontrolle noch komplette Lösung, erst bei einer Eigenhemmung entsprechend $\frac{8}{3}$ — 3 Komplementeinheiten würde bei der Serumkontrolle mit einfacher Serummengde und 10 Proz. Komplement die Hemmung in Erscheinung treten.

Tabelle I.

Ganz frisches Serum.

	Titriertes Komplement 3 Proz.	10 Proz. Komplement
Serumgebrauchsdose	komplette Lösung	komplette Lösung
Doppelte Gebrauchsdose	„ „	„ „

Tabelle II.

Schwache Eigenhemmung des Serums = 1 Komplementeinheit.

	3 Proz. Komplement	10 Proz. Komplement
Serumgebrauchsdose	komplette Hemmung ++++	komplette Lösung 10—3 Proz. Hemmung, bleiben noch 7 Proz. zur Hämolyse
Doppelte Gebrauchsdose	++++	komplette Lösung 10—6 Proz. Hemmung. bleiben noch 4 Proz. zur Hämolyse

Tabelle III.

Etwas stärkere Eigenhemmung = $\frac{4}{3}$ Komplementeinheiten.

	3 Proz. Komplement	10 Proz. Komplement
Serumgebrauchsdose	++++	komplette Lösung 10—4 Proz., bleiben 6 Proz. zur Hämolyse
Doppelte Gebrauchsdose	++++	Hemmung ca. + 10—8 Proz., bleiben 2 Proz. zur Hämolyse, $\frac{1}{3}$ Blut- körperchen ungelöst

Die beigegeführten Tabellen sollen die fraglichen Verhältnisse ungefähr zur Darstellung bringen, eine genaue zahlenmäßige Berechnung ist aus dem Grunde nicht möglich, weil die Verhältnisse durch den — außerdem recht verschiedenen — Gehalt des Serums an Hammelblutambozeptoren verschoben werden, was nicht berücksichtigt wurde.

In Tabelle III sehen wir übrigens unzweideutig, wie nach der theoretischen Berechnung die Vorschrift, die Serumkontrolle auf Eigenhemmung mit doppelter Serummenge anzusetzen, richtiger ist, wenn wir Reaktion und Kontrolle, wie üblich, gleichmäßig mit 10 Proz. Komplement ansetzen. Die praktische Erfahrung stimmt damit vollkommen überein: die Eigenhemmung „verdorbener“ Seren tritt bei doppelter Menge eher zutage — trotz der eventuellen Wirkung der Normalambozeptoren gegen Hammelblut — als bei einfacher Dose; die Folge davon ist, daß die Eigenhemmung eventuell bei einfacher Dose übersehen werden kann, was, wie wir gleich zeigen werden, zu falschen Resultaten führt.

Als Tatsache kann gelten, daß Seren, die nach Angabe der Originalvorschrift möglichst innerhalb 24 Stunden untersucht werden, keine oder in dem Falle geringe Eigenhemmung zeigen, wenn sie innerhalb der Zeit, die bis zur Untersuchung verstreicht, transportiert, wobei Schütteln unvermeidlich ist, oder längere Zeit bei gewöhnlicher Temperatur gehalten werden.

Daß starkes Schütteln auf den Ausfall der Wassermannschen Reaktion von Einfluß ist, davon konnten wir uns überzeugen in Fällen, wo Blut nach freiwilliger Serumabscheidung und nach Defibrinierung durch Schütteln mit Glasperlen gewonnen wurde; die negative Reaktion war durch Schütteln stark positiv geworden. Wir gedenken, auf diese Verhältnisse eventuell noch an anderer Stelle einzugehen.

Man könnte es danach für vorteilhafter halten, falls Blut notwendigerweise transportiert werden muß, nicht das ganze Blut, sondern nur das Serum, und zwar in inaktiviertem Zustande, zu versenden. Das muß aber aus verschiedenen

Gründen abgelehnt werden. Erstens fehlt es den Aerzten, die das Blut abnehmen und verschicken, fast immer an guten Zentrifugen, die zur restlosen Befreiung des Serums von den Blutkörperchen nötig sind. Werden Sera, die nicht frei von Blutkörperchen sind, erhitzt, so kann das zu differenten Resultaten führen. Aber auch sonst ist die Inaktivierung durch den abnehmenden Arzt zu widerraten, da gerade bei fehlerhafter Inaktivierung, die bei ungenügender Einrichtung sehr leicht vorkommen kann, Eigenhemmung entstehen kann, falls nämlich zu lange oder besonders zu hoch erhitzt wird, 60° genügen bereits.

Andererseits muß betont werden, daß ein Verderben der Seren durch rechtzeitige Inaktivierung ausgeschaltet oder wenigstens auf ein Minimum reduziert werden kann. Denn Schuld an dem Auftreten von Eigenhemmung ist wohl meist das Wachstum von Bakterien, von denen wenigstens die nicht sporenbildenden Arten durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 55° fast alle abgetötet werden. Man kann sich auch vorstellen, daß autolytische Fermente dabei zerstört werden.

Wie man nun auch dem entgegenarbeiten will, Tatsache bleibt, daß jedes Serum bei Aufbewahrung sehr bald meßbare Eigenhemmung gewinnt und daß diese Eigenhemmung allmählich immer stärkere Grade annimmt.

Dies tritt am auffälligsten in die Erscheinung bei der — nicht zu vermeidenden — Konservierung der bereits geprüften positiven und negativen Seren, die als „Kontrollseren“ für spätere Versuche entsprechend der Originalvorschrift dienen sollen.

Man kann recht häufig beobachten, daß länger aufbewahrte negative Kontrollseren zur positiven Reaktion leichteren oder mittleren Grades umschlagen, während die Serumkontrolle eventuell noch vollkommen blank gelöst ist.

Diese Tatsache findet ein Analogon in der von mehreren Seiten aufgestellten Behauptung, daß negativ reagierende Seren von sicher Luetischen — z. B. nach durchgeführter spezifischer Behandlung — nach Aufbewahrung doch noch positiv reagieren, dies kann auch eventuell als eine der nicht

seltenen Verfeinerungen der Originalmethode angesehen werden, obwohl sie nur auf Eigenhemmung beruht, was sich in jedem derartigen Fall durch quantitative Methoden einwandsfrei nachweisen läßt.

Welche Grade der Eigenhemmung werden nun unter den praktisch gegebenen Verhältnissen erreicht? Als sicher kann gelten, daß ein Serum, das transportiert wird und z. B. erst 24—36 Stunden nach Entnahme zur Trennung von Blutkuchen und Inaktivierung kommt, bereits ausnahmslos eine nachweisbare Eigenhemmung zeigt. Während, wie bereits öfter betont, ganz frische inaktivierte Seren in einfacher und doppelter Dose mit 3 Proz. Komplement und 4 Ambozeptoreinheiten regelmäßig komplette Hämolyse zeigen, zeigen derartige Seren fast ausnahmslos in einfacher Dose mit 4 Proz. Komplement eine Kuppe und erst bei $4\frac{1}{2}$ —5 Proz. Komplement komplette Hämolyse, die Eigenhemmung ist also hier schon deutlich meßbar, sie kann natürlich bei der gewöhnlichen Kontrolle mit 10 Proz. Komplement nicht in Erscheinung treten.

Fragen wir uns nun, ob diese — immerhin geringe — Eigenhemmung für den Ausfall der Wassermannschen Reaktion von Bedeutung sein kann, so muß dies unbedingt bejaht werden, und zwar für jeden einzelnen Fall, gleichgültig, ob es sich um positive oder negative Reaktionen handelt.

Nach unseren Untersuchungen gilt uneingeschränkt der Satz: Die Eigenhemmung eines Serums (und zwar die der einfachen Dose entsprechende Hemmung), in Komplementeinheiten ausgedrückt, addiert sich immer zu der Komplementmenge hinzu, die durch die Mischung Extrakt + Serum gebunden wird.

Dies gilt auch für die negativen Fälle höheren Grades, wo die gebundene Komplementmenge gleich Null oder eine negative Größe ist.

Einige Beispiele aus der oben gegebenen Breite mögen dies illustrieren.

Tabelle IV.

	I „Absolut normales“ Serum	II Negatives Serum	III Negative Seren Tbc., Ca.	IV Positive Reaktion Luesseren
FrISChe Seren: keine Spur von Eigenhemmung	komplette Lösung mit nur 6 Proz.	komplette Lösung mit 7 Proz.	kompl. Lösung mit 8 Proz.	komplette Lösung mit 10 Proz., d. h. bindet gerade nur 3 Proz. 4 Proz. Extrakthemmung 3 „ Bindung Rest 3 Proz. zur komplet- ten Lösung
Die gleichen Seren nach kurzer Aufbewahrung: Eigenhemmung in jedem Falle = 2 Proz. Kom- plement, d. h. komplette Hämolyse der Serum- kontrolle in einfacher Dose erst mit 5 Proz. Komplement	komplette Lösung erst mit 8 Proz.	komplette Lösung mit 9 Proz.	kompl. Lösung erst mit 10 Proz. (steht jetzt also dicht vor der Hemmung bei der WaR.)	Hemmung + + / + + + 4 Proz. Extrakthemmung 3 „ Bindung 2 „ Eigenhemmung Rest 1 Proz., genügt nur zur Lösung von $\frac{1}{3}$ der Blutkörperchen

Die oben gegebene Tabelle soll die geschilderten Verhältnisse nur schematisch darstellen; daß die Zahlen in jedem einzelnen Falle genau richtig sein sollen, behaupten wir nicht, wohl aber, daß bei genau quantitativer Einstellung der Wassermannschen Reaktion das Auftreten irgendeines meßbaren Grades von Eigenhemmung stets auch eine meßbare Veränderung im Resultat der Wassermannschen Reaktion ergibt und daß dies schon in so geringen Breiten der Eigenhemmung eintritt, die bei der Serumkontrolle mit 10 Proz. Komplement der Beobachtung entgehen.

In Stock III der Tabelle sehen wir, daß eine Eigenhemmung = $\frac{2}{3}$ Komplementeinheiten entsprechend 2 Proz. Komplement genügt, um den geringen Grad einer unspezifischen Bindung (z. B. bei fieberhafter Tuberkulose) so zu vermehren, daß das Resultat jetzt dicht an die Grenze heranrückt, wo bereits mehr als die 3 Proz. Ueberschuß gebunden werden und eine geringe Hemmung der Hämolyse im eigentlichen Versuch eintreten kann.

Tritt nun aber die gleiche Eigenhemmung bei dem Serum eines Luetikers auf, das frisch zwar negativ reagierte, wo

aber zur Totalhämolyse nicht 7, sondern z. B. 10 Proz. Komplement nötig waren, so werden bei einer Eigenhemmung = 2 Proz. Komplement jetzt 12 Proz. Komplement zur Totalhämolyse nötig sein; da nun die Reaktion mit 10 Proz. Komplement angesetzt wurde, so fehlen 2 Proz. Komplement oder $\frac{2}{3}$ Komplementeinheit, die Folge wird sein, daß ca. $\frac{2}{3}$ der Hammelblutkörperchen ungelöst bleiben; wir erhalten jetzt eine positive Reaktion von ungefährer Stärke +++/++++ nach der gebräuchlichen Notierung. Würde man sich in jedem Falle, wo ein negatives Luetiker Serum nach Aufbewahren positiv wird, die Mühe nehmen, die Eigenhemmung des konservierten Serums genau zu titrieren, so würde man erkennen, daß hier ausnahmslos die Erklärung des beschriebenen Phänomens zu suchen ist, dem also gar keine besondere Bedeutung beizulegen ist.

Wenn man in der Dauer der Serumkonservierung nicht stark von der Originalvorschrift abweicht, werden die Zahlen, wie wir sie oben gegeben haben, kaum überschritten werden. Mehrere Tage aufbewahrte Seren werden selten eine Eigenhemmung über 2 Proz. Komplement zeigen, so daß eigentliche Fehler bei der Serumkontrolle mit 10 Proz. Komplement nicht auftreten können. Und selbst bei noch stärkeren Graden der Eigenhemmung (z. B. 3 Proz. Komplement) könnte nur eine unspezifische Hemmung erzielt werden, die eine ganz schwache Kuppe in der eigentlichen Reaktion ergäbe. Auch diese Eventualität wird ausgeschaltet, wenn man sich bei der Diagnosenstellung streng an die Originalvorschrift hält, indem danach nur bei Hemmungen von +++ oder ++++ ein positives Resultat abgegeben wird, während bei + oder ++ die Diagnose: „zweifelhaft“ (resp. noch einmal einschicken) abgegeben werden soll. (Siehe Tabelle V auf p. 438).

Tabelle V auf p. 438 ist gerade einer der extremen, aber seltenen Fälle, die in gewissem Grade unangenehm werden können, insofern hier durch Eigenhemmung nicht nur eine „unspezifische Bindung“ (s. o.), sondern ein unspezifisches Resultat erzielt wird, während ein Normalserum unter den gleichen Verhältnissen noch eine vollkommen negative Reaktion ergeben würde.

Tabelle V.

Berechnung der Verhältnisse bei einer Eigenhemmung = 3 Proz. Komplement.

	Wassermannsche Reaktion		Extrakt-kontrolle	Serumkontrollen			
	Serum von fiebernder Tuberkulose	Normal-serum, Grenzfall		Komplement titriert 3 Proz.		Komplement 10 Proz.	
				einfache Serum-menge	doppelte Serum-menge	einfache Serum-menge	doppelte Serum-menge
Serum ganz frisch: Eigenhemmung = 0	kompl. Lösung mit 8 Proz. Komplement	komplette Lösung mit 7 Proz.	komplette Lösung mit 7 Proz.	komplette Lösung mit 3 Proz.	komplette Lösung mit 3 Proz.	komplette Lösung	komplette Lösung
Serum aufbewahrt: Eigenhemmung = 3 Proz.	kompl. Lösung mit 11 Proz., d. h. WaR. mit 10 Proz. Komplement = +/++	komplette Lösung mit 10 Proz., d. h. WaR. = 0	.	komplette Lösung mit 3+3 = 6 Proz.	komplette Lösung mit 3+6 = 9 Proz.	komplette Lösung	komplette Lösung

Wir wollen jetzt noch die Bedingungen, wann ein aufbewahrtes negatives Kontrollserum bei gelöster Serumkontrolle positiv werden kann, skizzieren, und auf der anderen Seite, wie die gegenseitigen Verhältnisse von Reaktion und Serumkontrolle liegen müssen, wenn bei 10 Proz. Komplement die Serumkontrolle eine Hemmung anzeigen soll.

Tabelle VI.

Länger aufbewahrtes, sicher negatives Normalserum:
Maximum der Serumeigenhemmung, wo eben noch bei doppelter Serummenge komplette Lösung erzielt wird.

	Wassermannsche Reaktion	Extrakt-kontrolle	Serumkontrollen		
			titriertes Komplement		10 Proz. Komplement doppelte Serummenge
			einfache Serummenge	doppelte Serummenge	
Serum frisch: Eigenhemmung = 0	komplette Lösung mit 7 Proz.	komplette Lösung mit 7 Proz.	komplette Lösung mit 3 Proz.	komplette Lösung mit 3 Proz.	komplette Lösung
Serum aufbewahrt: Eigenhemmung = 3,5 Proz. Komplement	komplette Lösung mit 7 + 3,5 = 10,5 Proz., d. h. es fehlen zur kompletten Lösung 0,5 Proz. Komplement = $\frac{1}{6}$ bleibt ca. $\frac{1}{6}$ Blut ungelöst = \pm	.	komplette Lösung mit 3 + 3,5 = 6,5 Proz.	komplette Lösung mit 10 Proz. (eher weniger) $3 + 2 \times 3,5 = 10$ Proz.	komplette Lösung

Man sieht, bei einem total negativen Serum kann das Resultat höchstens ganz geringe Kuppen zeigen, wenn die Eigenhemmung den höchsten Grad erreicht hat, der bei doppelter Serummenge und 10 Proz. Komplement in der Eigenhemmungskontrolle noch unbemerkt bleibt. Inwieweit dies bei Seren von Fieberkranken abweicht, haben wir bereits gesagt. Wir wollen nun zeigen, wieviel ungünstiger, d. h. falscher die Resultate schlimmstenfalls werden können, wenn wir die Serumkontrolle mit einfacher Serumdose ansetzen.

Tabelle VII.

Vollkommen negatives Normalserum, länger aufbewahrt.

	Wassermannsche Reaktion	Extrakt- kontrolle	Serumkontrollen		
			einfache Serumdose		
			titriertes Komplement	10 Proz. Komplement	
Serum frisch: Eigenhemmung = 0	komplette Lösung mit 7 Proz.	komplette Lösung mit 7 Proz.	komplette Lösung mit 3 Proz.	komplette Lösung	
Serum längere Zeit aufbe- wahrt: Eigen- hemmung = 7 Proz.	komplette Lösung mit 14 Proz. es fehlen 4 Proz. Komplement = $\frac{4}{3}$ Komplementeinhei- ten, d. h. WaR. = +++++	.	komplette Lösung mit 10 Proz.	komplette Lösung	bei doppelter Serum- menge fiel die Ei- genhemmungskon- trolle nach Berech- nung + + + + aus, tatsächlich vielleicht etwas geringer

Wir haben hier eines der wichtigsten Resultate unserer Untersuchungen vor uns, wir sehen, daß ein gänzlich negatives Normalserum nach längerer oder unsachgemäßer Aufbewahrung so stark eigenhemmend werden kann, daß es in der eigentlichen Reaktion +++++ ergibt, während die Serumkontrolle vollkommen gelöst ist, wenn sie mit einfacher Serumdose angesetzt wird, bei doppelter Serumdose würde eine Hemmung von etwa +++ herauskommen.

Legen wir auch auf die Zahlen im einzelnen keinen Wert, so kann man doch die Haupttatsachen, die eben dargestellt wurden, experimentell beweisen.

Als Forderung stellen wir jedenfalls auf, daß die Serumkontrolle bei Verwendung von 10 Proz.

Komplement unbedingt mit doppelter Serumdose angesetzt werden muß.

Wir sehen, daß bei einfacher Serumdose ein Normalserum durch Eigenhemmung ++++ fälschlich reagieren kann, bei vollkommen gelöster Serumkontrolle; wir sehen auf der anderen Seite, daß bei Serumkontrolle mit doppelter Serummenge ein Normalserum höchstens \pm reagieren kann bei eben noch komplett gelöster Kontrolle, und daß bei „unspezifischen Bindungen“ durch versteckte Eigenhemmung höchstens ein Resultat von +/++ herauskommen kann.

Wir betonen ferner, daß ein solches ungünstiges Resultat — das allerdings besser zu vermeiden wäre — höchst selten vorkommen wird und auch dann nur, wenn von den eigentlichen Vorschriften der Originalmethode, das Serum möglichst innerhalb von 24 Stunden zu untersuchen, merklich abgewichen wird. Zuletzt sei noch betont, daß dieser ungünstige Fall, daß ein negatives Serum durch Eigenhemmung schwach positiv wird, auch nicht zu einer falschen Diagnose führen kann, wenn man sich an die Notierung der Originalmethode hält, da ein solches Serum allerhöchstens als zweifelhaft bezeichnet werden könnte.

Wir haben gesehen, daß die negativen Kontrollseren, deren Konservierung in der Methode liegt, durch Eigenhemmung, besonders wenn die Serumkontrolle in einfacher Dose angesetzt wird, falsche Resultate ergeben können. Man hat nun auch hier konservierende Zusätze versucht. Papier-trocknung hat sich uns wenig bewährt; den Vorschlag, die Seren durch Phenolzusatz zu konservieren, würden wir nicht empfehlen, noch viel weniger dagegen für Seren, die erst untersucht werden sollen, da der Ausfall der Wassermannschen Reaktion durch eine, wenn auch geringe, Vermehrung der H-Ionenkonzentration schon merklich nach der positiven Richtung hin verschoben werden kann. Vielleicht wäre auch hier Formol zu versuchen, doch würde es nur für die Kontrollseren in Frage kommen. Das beste Mittel wird auch hier sein, möglichst häufig zu untersuchen, so daß die Kontrollseren nicht länger aufbewahrt werden brauchen, wie ja überhaupt die Ausführung der Wassermannschen Reaktion

nur bei regelmäßigem Betrieb mit absoluter Sicherheit arbeitet und wenig geeignet ist für vereinzelte Gelegenheitsuntersuchungen.

Wir müssen an diesem Punkt, wo wir ausgeführt haben, wie die bei Konservierung der Seren unvermeidlich auftretende Eigenhemmung die ganzen quantitativen Verhältnisse der Wassermannschen Reaktion nach der positiven Seite hin verschiebt, noch einmal auf die quantitativen Methoden und die Bestimmung des Extrakttiters zurückgreifen.

Wo sich die Forderung der Untersuchung von Seren innerhalb 24 Stunden nach Entnahme nicht durchführen läßt, müssen wir ausnahmslos mit Eigenhemmung rechnen, die aber, auf die einfache Serumdose bezogen, $\frac{2}{3}$ Proz. Komplement selten übersteigen wird.

Stellen wir nun unseren Extrakt auf frische Seren ein, so reagiert er bei älteren Seren zu stark, jedenfalls aber ausnahmslos etwas stärker. Stellen wir dagegen unseren Extrakt auf ältere Seren ein, so wird er zu schwach für frische. Mit einer geringen Eigenhemmung müssen wir aber doch wohl bei einer Extrakttitrierung rechnen, und wenn wir auf unser obiges Schema zurückgreifen, so muß die Grenze der positiven Reaktion nun um ebensoviel nach links verschoben werden, als einer häufig zu beobachtenden, schwer zu vermeidenden Eigenhemmung entspricht; als Maximum dafür, welches noch mitberücksichtigt werden kann, ohne allzu große Differenzen zwischen frischen und älteren Seren zu erzielen, möchten wir **2 Proz. Eigenhemmung** ansehen.

Wir sahen, daß über 2 Proz. Eigenhemmung z. B. schon bei Tuberkuloseseren zu einer schwach positiven Reaktion durch Eigenhemmung führen kann, bei komplett gelöster Serumkontrolle; bei 3-proz. Eigenhemmung tritt in der Serumkontrolle eine, wenn auch minimale Kuppe, auf. Es wäre also erwünscht, wenn wir feststellten, daß das zu untersuchende Serum in einfacher Dose nicht mehr als $\frac{2}{3}$ bis $\frac{3}{4}$ Komplementeinheiten Eigenhemmung besitzt.

Die veränderte Serumkontrolle, die wir demnach für Seren, die älter als 24—36 Stunden sind, vorschlagen, besteht darin, daß das Serum in

seiner Gebrauchsdose mit 5 Proz. Komplement keine Spur von Hemmung zeigen darf.

Hierin ist absolut keine „Modifikation“ der Originalmethode zu sehen, dies wäre bei Einhaltung sämtlicher Vorschriften, wie wir gesehen haben, absolut unnötig. Der Vorschlag bedeutet nur eine Erweiterung in dem Sinne, daß die Methode ebenso zuverlässig arbeitet auch bei längerer Aufbewahrung und Versand von Seren.

Daß selbst unter diesen Bedingungen aufbewahrte Seren Resultate ergeben können, die nicht absolut mit denen übereinstimmen, die mit dem gleichen Serum in frischem Zustande erzielt werden, geht aus dem Vorstehenden hervor. Die möglichen Differenzen dürften dadurch aber auf ein so kleines Maß eingeschränkt sein, daß man es praktisch ohne Schaden vernachlässigen kann.

Wir sehen in diesem Vorschlag prinzipielle Differenzen gegenüber der quantitativen Komplementtitrierung, von der man ja auf den ersten Blick annehmen könnte, daß sie am besten geeignet wäre, sämtliche Differenzen in den Resultaten der Wassermannschen Reaktion, die auf Eigenhemmung beruhen, auszuschalten, denn nur hierin und nicht in den verfeinerten Resultaten können wir den eventuellen Vorteil dieser Methode erblicken, worauf wir schon oben hinwiesen.

Erstens ist die Einstellung des Komplements auf die entstandene Eigenhemmung jedes einzelnen Serums bei Massenbetrieb einfach unmöglich und erfordert außerdem so geübte Untersucher, daß diese Methode eher Schaden als Nutzen stiften kann.

Zweitens wäre das Quantum an Eigenhemmung, das durch Zulegen von Komplement kompensiert werden könnte, nach dieser Methode unbegrenzt. Hier möchten wir der Methode auf keinen Fall folgen. Geringe Grade von Eigenhemmung mögen unschädlich sein, wenn die ganze Reaktion darauf eingestellt ist. Immerhin ist aber der Ausfall einer Wassermannschen Reaktion so folgeschwer, daß man Seren, die sich durch stärkere Grade von Eigenhemmung als grob verändert dokumentieren, wohl besser von der Untersuchung ausschließt.

Alle diese Fehler werden vermieden, wenn man die Serumkontrolle obligat mit 5 Proz. ansetzt und Seren, die in einfacher Dose nicht vollkommene Hämolyse erzielen, zurückweist. Auf diese Weise werden sicher die durch Eigenhemmung bedingten, schwach positiven (unspezifischen) Reaktionen restlos vermieden. Theoretische Bedenken lassen sich dagegen nicht erheben, und praktisch sehen wir darin die zwei Vorteile, daß erstens nicht mehr und keine feinere Arbeit verlangt wird wie bei der Originalmethode, und zweitens die Grenze, bis zu welcher eigenhemmende Seren, und das sind alle älteren Seren, die einen Transport durchmachen — zur Reaktion zugelassen werden, nach oben begrenzt ist. Wir möchten hinzufügen, daß diese Grenze (5 Proz. Komplement) nach unseren praktischen Erfahrungen eher etwas zu hoch gegriffen erscheint, aber 4 Proz. Komplement genügt nicht, da sonst von den Seren in einem gewöhnlichen Untersuchungsbetrieb zu viele zurückgewiesen werden müßten. Die etwa noch zu große Breite müßte dann durch dem entsprechende Extrakteinstellung kompensiert werden.

Nach dem Gesagten sehen wir eine Abweichung von den strengen Vorschriften der Originalmethode darin, wenn Seren mehrere Tage bis zur Untersuchung aufbewahrt werden. Es kann durch die dabei entstehende Eigenhemmung zu unspezifischen Reaktionen geringen Grades kommen. Hierdurch erklären sich sicher viele der Differenzen in den Resultaten verschiedener Untersucher, die demnach nicht der Methode zur Last gelegt werden dürfen. Erheblich verstärkt wird diese Möglichkeit durch Ansetzen der Serumkontrolle in einfacher Dose mit 10 Proz. Komplement.

Einer längeren Konservierung der Seren vor ihrer Untersuchung — oder auch der Kontrollseren — sind Schranken gesetzt, sowie wir für das konservierte Komplement eine Verstärkung der Dose über 10 Proz. Serum, je nach dem Abfall des Komplementgehalts, nicht für zulässig erachteten; so müssen wir auch eine zulässige Grenze finden, bis zu welcher eine Konservierung der zu untersuchenden Seren ohne Erhöhung der 10-proz. Komplementverdünnung zulässig ist. Wir glauben, daß die Serumkontrolle mit 5 Proz. Komplement

bei einfacher Serummengende praktisch diesen Anforderungen am besten genügt¹⁾).

Haben wir bisher besprochen, welche Methoden für Konservierung der verschiedenen Komponenten des hämolytischen Systems angegeben sind, und unter welchen — oft vernachlässigten Kautelen — sie zulässig sein dürften, haben wir ferner gesehen, daß bei der Konservierung der Reagentien für die Wassermannsche Reaktion **die Konservierung der zu untersuchenden Seren** viel mehr Aufmerksamkeit verdient, als ihr im allgemeinen geschenkt wird, so müssen wir zum Schluß noch auf die Extrakte eingehen.

Da hier ebensowenig, wie beim Serum, besondere Konservierungsmethoden in Frage kommen, so handelt es sich auch hier hauptsächlich darum, eventuell eingetretene Veränderungen der Extrakte rechtzeitig zu bemerken und die dadurch bedingten Differenzen auszuschalten.

Betreffs der Aufbewahrung der Extrakte sind nur wenige Punkte zu beachten: ratsam ist Abfüllung in braune Flaschen, möglichst vollständige Füllung der Flaschen, um unnötige Berührung mit der Luft zu vermeiden, als Stopfen glauben wir noch am ersten Korkstopfen empfehlen zu können. Glasstopfen schließen, wenn sie nicht paraffiniert sind; was sich nach Anbruch einer Flasche nicht durchführen läßt — nie ganz dicht und lassen Alkohol verdunsten. Gummistopfen, besonders solche aus Regeneratgummi, wie sie zurzeit meist verwendet werden, geben Stoffe an den Alkohol des Extraktes ab, die eventuell nicht indifferent sind.

Als besonders wichtig zu beachten ist, daß alkoholische Luesleberextrakte nicht im Eisschrank, sondern bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden müssen, da im Eisschrank für die Reaktion wichtige Körper ausfallen, die bei Zimmertemperatur erst langsam wieder in Lösung gehen, so daß ein Extrakt nach längerem Aufenthalt im Eisschrank oder Zimmer

1) Um Mißverständnisse zu vermeiden, wollen wir hier noch einmal darauf hinweisen, daß unsere Beweisführung, daß das Ansetzen der Serumkontrollen mit einfachen Serummengen falsch ist, nur dann gilt, wenn man 10 Proz. Komplement verwendet.

verschieden reagieren kann und auch seine Zusammensetzung nach verschiedenen Entnahmen je nach Aufbewahrung bei niedriger oder höherer Temperatur sich verändern kann.

Was nun die Veränderungen betrifft, die ein alkoholischer Luesleberextrakt bei längerer Aufbewahrung durchmachen kann — von der leichteren Veränderlichkeit wässriger Luesleberextrakte wollen wir hier absehen — so müssen hierbei sämtliche drei Extraktfunktionen: Eigenhämolyse, Eigenhemmung und Reaktionsstärke berücksichtigt werden, natürlich sachgemäße Aufbewahrung vorausgesetzt.

In der Eigenhämolyse und der Eigenhemmung, selbst bei genauer Titrierung, konnten wir bisher bei Aufbewahrung keine Veränderungen feststellen, wohl aber in der Reaktionsstärke.

Das Angenehme hierbei ist jedoch, daß die Veränderungen in dieser Richtung nur in den ersten Monaten vor sich gehen und dann anscheinend sich jahrelang auf Konstanz einstellen.

In früheren Jahren, wo man meist nur mit einem einzigen Extrakt arbeitete, mögen die Veränderungen, die frische Extrakte durchmachen, leicht übersehen worden sein. Im letzten Jahre, wo wir Gelegenheit hatten, zahlreiche Extrakte im Kaiser-Wilhelms-Institut für experimentelle Therapie für Heereszwecke herzustellen und zu titrieren, mußten wir unerwartet große Mengen von Extrakt nacheinander immer wieder frisch herstellen und titrieren. Es sind bisher über 20 Extrakte hergestellt worden, die immer in Serien von je drei abgegeben wurden, bei denen nicht nur unter den Extrakten einer Serie, sondern unter allen Extrakten möglichst absolute Uebereinstimmung erzielt werden soll. Welche — wenn auch praktisch zu vernachlässigende — Grenzen dieser Anforderung gestellt sind, haben wir schon oben auseinandergesetzt. Praktisch hat sich die Tatsache ergeben, daß man große Serien von Extrakten herstellen kann, die auch mit schwach positiven Seren (+ oder ++) dauernd erstaunlich gut übereinstimmende Resultate erzielen.

Wenn ein Extrakt minimal von anderen abweicht, so bleibt die Richtung dieser Abweichung

nach oben oder unten ausnahmslos bei allen Seren die gleiche.

Früher wurde häufig behauptet, man müsse Seren mit verschiedenen Extrakten ansetzen, weil verschiedene Extrakte mit verschiedenen Seren gesetzlos einmal stärkere, einmal schwächere Reaktionen ergeben. Dies trifft nicht zu. Gesetzlose Differenzen bei Verwendung verschiedener Extrakte können nur auf ungenaue Technik zurückgeführt werden. Erklärlich wird dies einmal durch die erstaunlich schlechte Beschaffenheit der meist verkauften Pipetten, und dann durch ungenaues Pipettieren, besonders bei dem jetzt üblichen Arbeiten mit halben Dosen, was nicht restlos zu begrüßen ist.

Eine kurze Berechnung mag dies illustrieren: mißt man z. B. von der Extraktverdünnung statt 0,5 ccm versehentlich 0,6 ab, was dem Geübtesten einmal vorkommen kann, und die meisten Untersucher sind sich nicht bewußt, ein wie außerordentlich grober Fehler schon darin liegt, so ergibt dies bei einem Extrakt mit der Gebrauchsdose $0,1 = 20$ Proz. den gleichen Effekt, auf die Gesamtreaktion bezogen, wie wenn man mit einer 24-proz. (0,12) Extraktverdünnung gearbeitet hätte, und jeder weiß wohl, was für erhebliche Unterschiede durch derartige Differenzen in der Extrakt-dose bedingt werden können.

Wir behaupten demnach, daß gut aufeinander eingestellte Extrakte stets gleichlautende Resultate ergeben, und daß man bei Abweichungen fast nur auf Abmessungsfehler zu achten hat, wovon man sich leicht durch Doppelversuche überzeugen kann.

Frisch eingestellte Extrakte lassen nun eine derartige Uebereinstimmung nicht erkennen, manche schwächen sich ab, unsere jetzt recht konzentriert hergestellten, heiß extrahierten Extrakte zeigen fast ausnahmslos eine recht deutliche Verstärkung innerhalb der ersten Monate.

Nach unseren Erfahrungen glauben wir annehmen zu dürfen, daß diese Veränderungen mit Sicherheit nach 3 Monaten abgelaufen sind.

Daß dann eine absolute Konstanz der Extrakte eintritt, glauben wir daraus schließen zu können, daß wir mit großen

Serien von Extrakten (12—15) auch bei schwachen Seren +/+++, nur bei diesen lassen sich feine Differenzen erkennen, vollkommen übereinstimmende Resultate erzielen. Da diese Extrakte in sehr erheblichen Zeitabständen hergestellt waren und immer wieder gleiche Resultate ergaben, kann man dies wohl nur damit erklären, daß sich keiner mehr von ihnen verändert hat, denn daß sich diese höchst verschieden alten Extrakte alle gleichmäßig in einem Sinne sollten verändert haben, wäre zu unwahrscheinlich.

Nach unseren jetzigen und früheren Erfahrungen glauben wir annehmen zu dürfen, daß ein Extrakt, wenn er nur erst zur Ruhe gekommen ist, dann jahrelang bei zweckmäßiger Aufbewahrung absolut konstant bleibt.

Was wir an diesen Feststellungen als besonders wichtig ansehen, ist der Umstand, daß es falsch ist, Extrakte gleich nach ihrer Herstellung zu titrieren, wie es wohl meist bisher üblich war. Die Veränderungen, die der Extrakt nachher durchmacht, können leicht übersehen werden.

Stellt man nun ohne neuerliche ausgedehnte Vergleichung mit den klinischen Daten einen Extrakt auf einen bewährten alten Extrakt ein, so hat sich dieser Extrakt in 3 Monaten verstärkt und bleibt dann stehen. Wird nun dieser neue Extrakt wieder zur Einstellung eines dritten Extraktes usw. benutzt, so kann über eine gewisse Zeit hinweg eine Veränderung der Extraktstärke stets gleichlaufend in einer Richtung auftreten.

Bei der Konservierung der Extrakte ist also auf diesen Punkt besonders zu achten; wir glauben, daß alle Schwierigkeiten vermieden werden, wenn die genaue Feststellung der Extrakt-dose erst nach zirka dreimonatiger Lagerung vorgenommen wird.

Zusammenfassung.

Bei der Originaltechnik der Wassermannschen Reaktion ist nur für das Hämolsin und den Luesleberextrakt eine regelmäßige Konservierung vorgesehen.

Für das Hämolsin sind verschiedene Konservierungsmethoden bekannt geworden, die wir in ihrer verschiedenen

Bewertbarkeit dargestellt haben; Unterschiede, die methodisch zu Einwänden Veranlassung geben könnte, fanden sich nicht, es kommt hauptsächlich auf Unterschiede in der Bequemlichkeit der Verarbeitung und der mehr oder minder großen Sicherheit der Erhaltung des Titers heraus.

Alkoholische Luesleberextrakte können in ihrer Wirksamkeit nicht als konstant angesehen werden; in der Zeit nach ihrer Herstellung verändert sich der Titer; dieser Vorgang kann nach ca. 3 Monaten als abgeschlossen gelten, erst nach dieser Zeit soll man die Titrierung der Extrakte vornehmen. Danach sind bei sachgemäßer Aufbewahrung (nicht im Eisschrank) keine Veränderungen mehr zu erwarten.

Verschiedene Extrakte, die nach der gleichen Methode hergestellt wurden und genügend scharf aufeinander eingestellt sind, geben mit ein und demselben Serum immer vollkommen übereinstimmende Resultate. Die Behauptung, daß Seren mit verschiedenen (aufeinander eingestellten) Extrakten regellos differente Resultate, bald schwächer bald stärker, ergäben, kann nicht aufrechterhalten werden.

Betrachten wir die Ergebnisse der Wassermannschen Reaktion einmal vom Standpunkte, inwieweit sich die drei übrigen Reagentien: Hammelblut, Komplement und Patientenserum konservieren lassen, so liegt hier die Hauptursache für das Zustandekommen differenter Resultate verschiedener Untersucher, falls nämlich einer der Hauptpunkte der Originalvorschrift außer acht gelassen wird, daß diese drei Reagentien nur innerhalb 24 Stunden nach ihrer Gewinnung verwendet werden sollen.

Wir haben die Vorschriften und Bedingungen, unter denen diese drei Reagentien über diese Zeit hinaus konserviert werden können, untersucht und kommen zutreffenden Ergebnissen:

Die Konservierung des Hammelblutes gelingt einwandfrei durch Zusatz von Handelsformol im Verhältnis 1:700; Zeitdauer der möglichen Aufbewahrung: ca. 8 Tage.

Die Untersuchung, inwieweit sich Komplement und Patientenserum konservieren lassen, machte ein genaues Eingehen auf die quantitativen Verhältnisse bei der Wassermannschen

Reaktion nötig; der Schluß, den wir aus unseren Ausführungen zogen, war der, daß sämtliche „quantitativ verfeinerten“ Methoden nicht nur unnötig, sondern sogar unzulässig sind.

Die Originaltechnik ist bei Beachtung sämtlicher vorgeschriebener Details auch in den feinsten quantitativen Verhältnissen genau ausbalanciert und bedarf keiner Verbesserungen.

Bei Verwendung standardisierter Extrakte und genauer Einhaltung der Originalvorschrift müssen verschiedene Untersucher zu gleichen Resultaten kommen, eine Forderung, die wir im Dahlemer Institut durch größere Versuchsreihen ausnahmslos erfüllen konnten. Wir stehen nicht an, zu behaupten, daß sämtliche Differenzen in den mit dem gleichen Serum erhaltenen Resultaten restlos auf falsches Arbeiten zurückgeführt werden müssen.

Die für die Konservierung des Komplements, z. B. durch Zufügen konzentrierter Kochsalzlösung, angegebenen Vorschriften genügen in der bisherigen Form keineswegs:

Es genügt nicht, aufbewahrtes Komplement zu titrieren und dementsprechend die Gebrauchsdose zu berechnen, sondern es muß der Nachweis erbracht werden, daß der Komplementtiter nicht gefallen ist. Die diesen Anforderungen genügende Versuchsanordnung haben wir in einfacher Form gegeben, ohne daß untersuchungsreihen mit Titrierung des Komplements angestellt werden müssen, die für die gewöhnlichen Laboratoriumsbetriebe durchaus vermieden werden müssen.

Legen wir nun auch auf die Konservierbarkeit des Komplements keinen allzu großen Wert, so ist doch in praktischer Beziehung eine Abweichung von der Originalvorschrift manchmal schwer zu umgehen: das betrifft die frühzeitige Untersuchung des Patientenserums.

Als eine Abweichung muß dies jedenfalls angesehen werden, und für diesen Fall muß auch durch eine besondere Versuchsanordnung den ausnahmslos veränderten quantitativen Verhältnissen Rechnung getragen werden.

Wie wir gezeigt haben, ist das Verfahren der bisherigen quantitativen Methoden hierfür unzulässig, das darin besteht,

450 Lange, Lebensdauer der für die Wa.R. benötigten Reagentien.

durch besondere Versuchsreihen die Eigenhemmung des aufbewahrten Serums zu titrieren und derselben in der nachher zu verwendenden Komplementdosis Rechnung zu tragen.

Derartige Versuchsreihen sind erstens für gewöhnliche Laboratorien viel zu kompliziert und zeitraubend, und zweitens bestimmen sie vor allen Dingen keine höchstzulässige Grenze von Serumeigenhemmung, bis zu welcher man noch auf sichere Resultate rechnen kann.

Beide Bedingungen werden mit genügender Genauigkeit durch unseren Vorschlag erfüllt, in solchen Fällen die Serumkontrolle in einfacher Dosis mit nur 5 Proz. Komplement anzusetzen. Das Ansetzen der Serumkontrolle in solchen Fällen mit 10 Proz. Komplement und einfacher Serumdosis kann zu falschen Resultaten führen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Stellvertretender Direktor: Prof. H. Sachs).]

Ueber den Einfluß der Cholesterinierung auf die Empfindlichkeit der Organextrakte bei der Wassermannschen Reaktion ¹⁾.

Von H. Sachs.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. März 1917.)

Durch meine, in Gemeinschaft mit Rondoni²⁾ ausgeführten Untersuchungen war gezeigt worden, daß es bei der Verwendung von Lipoiden an Stelle von Organextrakten für die Wassermannsche Reaktion nicht so sehr auf einen bestimmten chemischen Stoff ankommt, daß vielmehr die Empfindlichkeit der Reagentien durch eine geeignete Kombination verschiedener Lipoide, insbesondere von Lezithin, Seifen und Fettsäuren erheblich gesteigert wird. Es war hierdurch ein Weg gewiesen zu einem Ersatz der natürlichen Organextrakte bei der Wassermannschen Reaktion.

Wenn es dabei auch bisher nicht gelungen ist, zu vollwertigen künstlichen Gemischen zu gelangen, so waren mir die Erfahrungen, die sich aus diesen Studien und aus den im hiesigen Institut ausgeführten Untersuchungen von Herrn Prof. Conradi, wie auch aus den Arbeiten Brownings³⁾ über den Einfluß des Cholesterins auf künstliche Gemische ergaben, der Wegweiser, um alkoholische Extrakte aus normalen Organen durch Zusatz von Lipoiden so zu verstärken, daß sie auch den syphilitischen Extrakten gleichwertig würden.

1) Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Versuche wurden von Fräulein Helene Rosenstein und Fräulein Gertraudis Klinkhart ausgeführt.

2) H. Sachs und P. Rondoni, diese Zeitschr., Bd. 1, 1908, p. 132.

3) C. H. Browning, J. Cruickshank und J. M'Kenzie, Biochem. Zeitschr., Bd. 25, 1910, p. 85.

Das ist mir in der Tat durch einen Zusatz von Cholesterin zu normalen Organextrakten, wie ich glaube, in befriedigender Weise gelungen¹⁾, und in langjähriger praktischer Erfahrung haben sich die cholesterinierten Extrakte im hiesigen Institut, wie auch an anderen Stellen, für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion gut bewährt.

Was den Einfluß des Cholesterinzusatzes anlangt, so äußert sich derselbe zunächst darin, daß Syphilissera, die mit den natürlichen Extrakten noch negativ reagieren, unter dem Einfluß der Cholesterinierung des Extraktes ihr positives Verhalten anzeigen. In gleicher Weise wird nun auch die Reaktionsbreite der auch mit uncholesteriniertem Extrakt positiv reagierenden Sera durch den Cholesterinzusatz verstärkt. Man kann sich davon auf zweierlei Art überzeugen. Im hiesigen Institut wird die Wassermannsche Reaktion — entsprechend dem ursprünglich von A. Neißer, Bruck und Schucht zur Wertbemessung der syphilitischen Sera eingeschlagenen Verfahren — von Anfang an in der Weise ausgeführt, daß absteigende Extraktmengen (in der Regel 3 verschiedene Dosen) mit einer einheitlichen Serummengende digeriert werden. Ich hatte mich, wie auch andere Autoren, davon überzeugt²⁾, „daß der quantitative Grad der Reaktionsfähigkeit ebenso durch eine Abstufung der Extraktmengen wie der Serummengen ermittelt werden kann. Sera, welche bereits in relativ geringen Mengen die Wassermannsche Reaktion geben, reagieren bei Verwendung einer einheitlichen Serumdosis auch bereits mit geringen Extraktmengen“. Das Arbeiten mit absteigenden Extraktmengen schien mir aber deshalb zweckmäßig zu sein, weil bei absteigenden Serummengen durch die damit verbundene Variation des Eiweiß- und Normalambozeptorgehaltes die sekundären Bedingungen, streng genommen, in jedem Versuchsröhrchen wechseln.

Nun hat neuerdings Jaiser³⁾ den Einfluß der Cholesterinierung auf Organextrakte erprobt, und er glaubt aus

1) H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 46; s. auch Hyg. Rundschau, 1914, p. 677.

2) H. Sachs und K. Altmann, Handb. der pathogenen Mikroorganismen, 2. Ergänzungsband, 1909, p. 550.

3) A. Jaiser, diese Zeitschr., Bd. 24, 1916, p. 568.

seinen Versuchen den Schluß ziehen zu sollen, daß durch Cholesterinzusatz eine Verstärkung der Wassermannschen Reaktion nur insofern erzielt wird, als dasselbe Serum mit geringeren Extraktmengen reagiert, daß jedoch eine Verminderung der noch zur positiven Reaktion ausreichenden Serummengende durch Cholesterinzusatz nicht eintritt. Jaiser bezeichnet die geringste Extraktmenge, die noch zur positiven Reaktion hinreicht, als „Titerwert“, die geringste, noch positive Reaktion gebende Serummengende als „Sensibilitätswert“ des Extraktes. Nach seinen Untersuchungen würde demnach nur der Titerwert, aber nicht der Sensibilitätswert durch den Einfluß des Cholesterins verschärft, und die Verbesserung der Extrakte durch Cholesterinzusatz würde lediglich in ökonomischer Richtung liegen, indem die Gebrauchsdosis des Extraktes herabgesetzt wird.

Wenn wohl auch bereits der ökonomische Vorteil, der durch eine Herabsetzung der Gebrauchsdosis bedingt wird, nicht unwesentlich erscheinen dürfte, so sprechen meine langjährigen Erfahrungen doch dafür, daß auch die Sensibilität des Extraktes im Sinne Jaisers durch den Cholesterinzusatz verstärkt werden muß, d. h. daß der Cholesterinzusatz auch zu der Möglichkeit einer Reaktion mit geringeren Serummengen führt. Denn sonst wäre es ja schwer verständlich, wieso unter dem Einfluß des Cholesterins auch Sera positiv werden, die ohne Cholesterinzusatz überhaupt nicht positiv reagieren. Und solchen Serumproben begegnet man bei der Untersuchung eines größeren Materials durchaus nicht selten.

Damit soll natürlich keineswegs bestritten werden, daß natürliche Extrakte unter Umständen von vornherein so reagieren können, daß eine Verstärkung durch Cholesterin nicht mehr möglich ist. Solche Extrakte müssen aber zur Demonstration des Einflusses der Cholesterinwirkung ungeeignet erscheinen.

Trotzdem habe ich geglaubt, die Wirkung des Cholesterinzusatzes auf den Extrakt auch für das Arbeiten mit absteigenden Serummengen besonders erproben zu sollen. Die Ergebnisse, über die ich mir im folgenden zu berichten erlaube, haben gezeigt, daß durch den Cholesterinzusatz auch

die Sensibilität des Extraktes in bezug auf die geringsten, noch positiv reagierenden Serum-mengen verstärkt wird. Man wird allerdings nach den allgemeinen Erfahrungen bei der Wassermannschen Reaktion nicht erwarten dürfen, daß bei allen Serumproben eine durch eine einheitliche Zahlenangabe ausdrückbare Steigerung der Reaktionsfähigkeit des Extraktes bei Cholesterinzusatz auftritt. Das ist weder beim Arbeiten mit absteigenden Extraktmengen, noch beim Arbeiten mit absteigenden Serum-mengen der Fall. Es verhalten sich, wie schon die abweichende Reaktionsfähigkeit mancher Serumproben bei der Prüfung mit verschiedenen Extrakten erweist, die einzelnen Sera nicht nur quantitativ, sondern bis zu einem gewissen Grade auch qualitativ different. Wenn man daher verschiedene Sera gegenüber demselben Extrakt ohne und mit Cholesterinzusatz quantitativ unter Veränderung der Extrakt- und Serummengen auswertet, so ergeben sich durchaus nicht einheitliche Grade der Empfindlichkeitssteigerung, wie es das folgende Versuchsbeispiel zeigt.

Der zu den mitgeteilten Versuchen benutzte Extrakt war ein alkoholischer Rinderherzextrakt, der

im Versuchsteil A in rohem Zustande.

im Versuchsteil B nach Zusatz von 4.35 ccm 1-proz. alkoholischer Cholesterinlösung zu 100 ccm des rohen Extraktes benutzt wurde.

Die Wassermannsche Reaktion wurde in der Weise ausgeführt, daß

I. absteigende Mengen der 6-fach verdünnten Extrakte unter Zusatz von je 0.025 ccm inaktivierten Patientenserums und je 0.025 ccm Meerschweinchenserums (Volumen 0.75 ccm).

II. absteigende Mengen 10-fach verdünnten Patientenserums mit je 0.25 ccm 6—10-fach verdünnten Extraktes und je 0.025 ccm Meerschweinchenserums (Volumen 0.75 ccm).

eine Stunde im Brutschrank digeriert wurden. Sodann erfolgte Zusatz von 0.5 ccm eines zu gleichen Teilen aus Hammelblut und Ambozeptorverdünnung bestehenden Gemisches.

Die Bedingungen waren bei rohem und cholesteriniertem Extrakt genau die gleichen.

In der folgenden tabellarischen Uebersicht ist das Ergebnis bei 10 Wassermann-positiven Syphilissera notiert¹⁾.

1) Bemerkte sei, daß die Extrakte auch im doppelten Multiplum der größten Gebrauchsdose (1%, 0.5 ccm) nicht oder nur sehr geringgradig eigenhemmend wirkten.

I. Absteigende Extraktmengen.

Mengen der 6-fach verdünnten Extrakte	Eingetretene Hämolyse mit																			
	A. Rohextrakt und den Serumproben:							B. Cholesterinextrakt und den Serumproben:												
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k
0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	k.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,15	0	w.	0	0	0	0	0	0	0	w.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	Sp.	f.k.	0	m.	0	0	0	0	0	m.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	k.	k.	m.	k.	w.	w.	0	0	0	f.k.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Spch.
0,03	k.	k.	k.	k.	k.	m.	0	0	0	k.	0	f.k.	Sp.	m.	0	Spch.	0	0	w.	f.k.
0,02	k.	k.	k.	k.	k.	st.	w.	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	f.k.	w.	Sp.	0	Spch.	m.	k.
0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

II. Absteigende Serum mengen.

Mengen des 10-fach verdünnten Serums ccm	Eingetretene Hämolyse mit												
	B. Cholesterinextrakt und den Serumproben:												
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m
0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,15	Spch.	m.	0	Spch.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	Spch.	k.	0	Sp.	Spch.	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	k.	k.	0	k.	k.	f.k.	Sp.	0	0	0	0	0	k.
0,03	k.	k.	w.	k.	k.	k.	m.	0	0	0	0	0	k.
0,02	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	0	0	0	0	0	k.
0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	0	0	0	0	0	k.

Es bedeutet: k. = komplette
f.k. = fast komplette
st. = starke
m. = mäßige

w. = wenig
Sp. = Spur
Spch. = Spürchen
0 = keine

Hämolyse

Hämolyse

Die in der Tabelle wiedergegebenen Ergebnisse sind nur Beispiele aus größeren Versuchsreihen, die nicht allein unter Verwendung von Rinderherzextrakt, sondern auch unter Verwendung von syphilitischen Leberextrakten ohne und mit Zusatz von Cholesterin ausgeführt wurden. Es ergibt sich einheitlich, daß durch den Cholesterinzusatz zum Extrakt die Wassermannsche Reaktion nicht nur beim Arbeiten mit absteigenden Extraktmengen, sondern auch beim Arbeiten mit absteigenden Serummengen eine Verstärkung erfährt. Im allgemeinen geht die Verstärkung bei beiden Anordnungen des Versuches parallel. Nicht selten schien es sogar, daß beim Arbeiten mit absteigenden Serummengen die Zone der positiven Reaktion in größerem Maße verbreitert wird, als beim Arbeiten mit absteigenden Extraktmengen.

Andererseits zeigt sich aber, daß durchaus nicht bei allen Seren eine zahlenmäßig parallele Uebereinstimmung der Verstärkung durch Cholesterinzusatz besteht. Bei manchen Serumproben kann die Verstärkung nur wenig, bei anderen wieder außerordentlich stark in Erscheinung treten, trotz gleichzeitiger Ausführung der Versuche. Es kann auch vorkommen, daß Sera, die ohne Cholesterinzusatz gleich stark oder verschieden-gradig reagieren, durch die Cholesterinierung des Extraktes verschieden stark oder auch im Sinne einer Inversion des Ergebnisses beeinflußt werden (siehe z. B. e und f). Dieses Verhalten, das mir allerdings nicht häufig begegnet ist, könnte dadurch eine Erklärung finden, daß ja für die Wassermannsche Reaktion neben der durch die syphilitische Erkrankung bedingten charakteristischen Serumveränderung auch eine Reihe sekundärer Momente maßgebend sind, die in dem Alkaleszenz- bzw. Aziditätsgrad des Serums, sowie in dessen physikalischem Zustand gelegen sind. Ich darf mich dabei begnügen, auf die Untersuchungen von mir und Altmann¹⁾, Guggenheimer²⁾ zu verweisen, die die wechselnde Abhängigkeit der Wassermannschen Reaktion von der Temperatur, von der Alkaleszenz und Azidität, von der Inaktivierung erwiesen haben. Es braucht daher auch nicht wunder-

1) H. Sachs und K. Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14; diese Zeitschr., Bd. 26, 1917, an folgender Stelle.

2) H. Guggenheimer, Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 26.

zunehmen, wenn durch Cholesterinzusatz zum Extrakt nicht bei allen Seris eine gleichmäßige Verstärkung auftritt, und es braucht nicht einmal zu überraschen, wenn bei manchen Serumarten eine Verstärkung überhaupt ausbleibt.

Man könnte sich vielleicht vorstellen, daß das Wesen der zur Wassermannschen Reaktion führenden Serumbeschaffenheit in besonderen Mischungsverhältnissen der Lipoiden im Serum besteht. Dann würde die anti-komplementäre Wirkung, die der Ausdruck der positiven Wassermannschen Reaktion ist, durch ein optimales Zusammenwirken der Lipoiden zustande kommen, wobei natürlich die Annahme von Globulinveränderungen im Serum offenbleibt und keineswegs ausgeschlossen werden soll. Das Lipoidgemisch des Extraktes würde die eine Komponente sein, das Lipoidgemisch im Serum, bzw. dessen Lipoid-Eiweißverbindungen die andere. Je nach der Beschaffenheit der Lipoiden im Serum müssen also im Extrakt die fehlenden Lipoiden vereinigt sein. Bei guten Organextrakten kann das anscheinend weitgehend der Fall sein. Jeder Extraktbeschaffenheit würde also eine optimale Zusammensetzung im Serum entsprechen müssen. Bei den nichtcholesterinierten Herzextrakten entsprechen augenscheinlich nur verhältnismäßig wenig Syphilitiker-sera den günstigsten Bedingungen, und hier wird eben durch einen Cholesterinzusatz ein Optimum der Wirkung erreicht.

In dem hier erörterten Sinne dürften vielleicht schon die Untersuchungen von mir und Rondoni über die erhebliche Verbesserung der Lipoidsubstanzen in ihrer Wirkung bei der Wassermannschen Reaktion durch geeignete Lipoidmischung sprechen. Man müßte allerdings, wenn die angeführte Auffassung richtig ist, durch geeigneten Zusatz von Lipoiden oder Lipoidgemischen in der Lage sein, negative Sera zu positiven umzuwandeln. In einem gewissen Grade ist mir das durch Zusatz von Seifen gelungen ¹⁾. Eine weitere Erforschung der hier in Betracht kommenden Möglichkeiten würde umfassende Untersuchungen erfordern, und auch dann wäre es zweifelhaft, ob es möglich ist, das unter dem Einfluß der Syphilis sich vollziehende natürliche Geschehen willkürlich nachzuahmen. Bereitet doch schon der künstliche vollwertige Ersatz der Organextrakte so erhebliche Schwierigkeiten, wenn

1) Vgl. H. Sachs und K. Altmann, l. c.

man auch, wie ich aus eigener Erfahrung weiß, glaubt, dem Ziel schon ganz nahe zu sein.

Für die Praxis der Wassermannschen Reaktion aber bedeutet eine geeignete Cholesterinierung der Extrakte, wie ich glaube, wohl die günstigsten Bedingungen, die bisher erzielbar sind, und ich habe durch die mitgeteilten Versuche gezeigt, daß der Cholesterinzusatz nicht nur die Empfindlichkeit gegenüber geringeren Extrakt Dosen, sondern auch gegenüber kleineren Serummengen ganz erheblich verstärkt. Ich möchte allerdings nicht unterlassen, wiederholt hervorzuheben, daß sich keine einheitliche Angabe für den geeigneten Cholesterinzusatz machen läßt. Das Optimum des Cholesterinzusatzes ist abhängig von der Konzentration der übrigen Stoffe im Extrakt. Konzentriertere Extrakte bedürfen daher eines stärkeren Cholesterinzusatzes als verdünnte Extrakte. Ich lasse stets die alkoholischen Originalextrakte unverdünnt und in 2—3-facher Alkoholverdünnung mit verschiedenen Cholesterinzusätzen an zahlreichen Seris erproben und wähle für den praktischen Gebrauch die günstigsten Bedingungen aus. Der Cholesterinzusatz wechselte daher in den von mir bisher benutzten Extrakten zwischen 0,2 und 1,6, höchstens 2 Prom., meist aber schwankte er zwischen 0,4 und 1 Prom. Andererseits möchte ich aber auch erwähnen, daß die cholesterinierten Extrakte nicht bei allen Serumproben die günstigsten Bedingungen darstellen müssen. Ich glaube insbesondere auf Grund meiner Erfahrungen, annehmen zu sollen, daß entsprechend den Angaben anderer Autoren die Verstärkung der Reaktion durch Cholesterinzusatz in einer Mehrzahl von Fällen in Spätstadien, in der Latenz, wesentlich in Erscheinung tritt. Bei manchen Frühfällen habe ich eine Ueberlegenheit der nach dem Vorgange von F. Lesser durch Aetherextraktion gewonnenen und in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommenen Extrakte gesehen.

Selbstverständlich müssen aber die cholesterinierten Extrakte, wie das nicht immer der Fall zu sein scheint, ebenso wie native Extrakte erprobt werden. Ein Zusatz von 5 Prom. Cholesterin, wie ihn z. B. Alexander¹⁾ mit anscheinend unspezifischen Reaktionen ver-

1) A. Alexander, Dermatol. Zeitschr., Bd. 21, 1914, p. 218.

wandte, erscheint mir von vornherein zu hoch, wenn auch bei hinreichend konzentrierten Extrakten damit einwandfreie Ergebnisse erzielt werden können. Aber auch bei niedrigerem Cholesteringehalt kann die Grenze der Spezifität überschritten werden [vgl. Bottler¹⁾], wenn man sich nicht in Vorversuchen von der Brauchbarkeit des Extraktes überzeugt.

Die Prüfung der Extrakte auf charakteristisches Gepräge muß stets eine unbedingte Forderung bleiben. Ich habe erst vor kurzem einen Meerschweinchenherzextrakt in Händen gehabt, der aus älteren, nicht hinreichend kalt aufbewahrten Meerschweinchenherzen gewonnen war, und der ohne Cholesterinzusatz Andeutungen von unspezifischen Reaktionen zeigte, ohne aber mit positiven Seris stärker oder auch nur gleich stark zu reagieren, wie gleichzeitig geprüfte einwandfreie cholesterinierte Rinderherzextrakte. Vielleicht wird das unspezifische Reagieren von gewissen Extrakten durch Beobachtungen aufgeklärt, nach denen durch Alkalisierung der alkoholischen Extrakte, wenn auch nicht regelmäßig, Veränderungen in diesem Sinne auftreten können²⁾. Jedenfalls aber entsprechen cholesterinierte Extrakte, die einfach durch Mischen von Organextrakten und Cholesterin in bestimmten Mengenverhältnissen ohne vorherige Erprobung erhalten werden, nicht meinen Angaben.

Zusammenfassung.

1) Durch Cholesterinzusatz wird die Empfindlichkeit der Organextrakte verstärkt. Cholesterinierte Extrakte reagieren nicht nur in geringeren Dosen, sondern auch mit geringeren Serummengen positiv, als uncholesterinierte Extrakte.

2) Der günstigste Cholesterinzusatz ist durch Versuche zu erproben. Ein einfaches Mischungsverhältnis läßt sich nicht ohne weiteres angeben. Der Cholesteringehalt darf nicht über die Grenzen der charakteristischen Reaktionsfähigkeit hinausgehen. Unter Umständen kann der rohe Extrakt bereits den günstigsten Bedingungen entsprechen.

3) Der Cholesterinzusatz muß nicht für jedes Serum eine Verbesserung bedeuten; die günstigste Zusammensetzung des Extraktes kann unter Umständen variieren.

1) R. Bottler, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis, Bd. 116, 1913, p. 259.

2) Vgl. H. Sachs und K. Altmann, l. c.

Nachtrag während der Korrektur.

Daß man durch Cholesterinzusatz die ursprünglich von mir und Rondoni benutzten künstlichen Stammgemische aus Lecithin und Natrium oleinicum in geeigneter Weise verstärken kann, haben mir, in Verfolg der früheren Untersuchungen von Herrn Prof. Conradi, neuere, in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Stilling ausgeführte Versuche gezeigt. Es hat sich ergeben, daß Mischungen von 5 ccm 1-proz. alkoholischer Lecithinlösung, 5 ccm 1-proz. Lösung von Natrium oleinicum und 20 ccm Alkohol durch Zusatz von 0,75—1,5 ccm 1-proz. Cholesterinlösung erheblich geeigneter für die Wassermannsche Reaktion werden. Ob derartige künstliche Gemische auch die empfindlichsten natürlichen Extrakte an Wirksamkeit erreichen, läßt sich zurzeit noch nicht sagen. Wir sind mit Versuchen beschäftigt, die Zusammensetzung, wenn möglich, noch günstiger zu gestalten.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich, stellvertretender Direktor: Prof. Dr. H. Sachs).]

Ueber den Einfluß von Temperatur und Reaktion des Mediums auf die Serodiagnostik der Syphilis.

(Zugleich ein Beitrag zum Wesen der Wassermannschen Reaktion.)

Von **H. Sachs** und **K. Altmann**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. November 1916.)

Durch die Begründung der Serodiagnostik der Syphilis mittels der Wassermannschen Reaktion ist, abgesehen von der gewaltigen praktischen Bedeutung, die dieser Methode zukommt, ein Forschungsgebiet von neuartigem, wissenschaftlichem Interesse eröffnet worden. Mag man auch bestrebt sein, bei der Verwendung gewisser Reagentien von der Beteiligung einer spezifischen Antikörperreaktion zu sprechen, so hat sich im allgemeinen doch ergeben, daß durch das Zusammenwirken von zwei Komponenten Erscheinungen entstehen können, die man als Folge von spezifischen Komplementbindungsvorgängen aufzufassen gewohnt war, bei

denen man aber nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse kaum mehr annehmen kann, daß die beiden in Frage kommenden Faktoren (Organextrakt und Syphilitiker Serum) als eigentliche Antigene und Antikörper fungieren. Es ist daher immerhin berechtigt, zur Erklärung des Wesens der Wassermannschen Reaktion nach Analogien mit der durch spezifische Antigen-Antikörperreaktion entstehenden Komplementbindung zu suchen; andererseits aber darf man nicht übersehen, daß auch diese spezifische Komplementbindung keineswegs restlos geklärt ist, und daß sogar die wohl zuerst von Friedemann präzise formulierte Anschauung, nach der Komplementbindung indirekt durch das allgemeinere Prinzip der antikomplementären Globulinwirkung zustande kommt, an Wahrscheinlichkeit zu gewinnen scheint.

Man muß bei theoretischen Betrachtungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion allerdings zwei Vorgänge unterscheiden:

1) Die Beziehungen zwischen Organextrakt und Patientenserum, bzw. die Ursachen der pathologischen Serumveränderung und

2) das eigentliche Erlöschen der Komplementfunktion.

In letzterer Hinsicht haben wir schon frühzeitig versucht, Analogien nicht allein in der eigentlichen Komplementbindungsreaktion, sondern vielmehr in den verschiedenen Formen der Komplementinaktivierung zu erblicken. Bereits auf Grund unserer Analyse der von Sachs und Teruuchi entdeckten Hydrolabilität der Komplemente (der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium), über deren Ergebnis wir vor kurzem eingehend berichtet haben¹⁾, haben wir auf Vergleichspunkte hingewiesen, welche zwischen dieser Art der Komplementinaktivierung und der Wassermannschen Reaktion bestehen. Wir haben uns darüber im Jahre 1909 folgendermaßen geäußert²⁾:

„Wir möchten jedoch diesen Abschnitt nicht schließen, ohne darauf hinzuweisen, daß die Auffassung der Syphilisreaktion als Komplementbindung bis zu einem gewissen Grade immerhin eine willkürliche ist und

1) H. Sachs und K. Altmann, Biochem. Zeitschr., Bd. 78, 1916, p. 46 (vgl. auch Vereinigung für Mikrobiologie, Berlin 1908).

2) H. Sachs und K. Altmann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (Kolle-Wassermann), 1. Aufl., 2. Erg.-Band, 1909, p. 542.

der äußeren Analogie, welche zu den echten Komplementbindungsreaktionen bei Verwendung von Antigenen und Antikörpern besteht, ihren Ursprung verdankt. Man kann sich nun auch vorstellen, daß es sich bei der Wassermannschen Reaktion nicht um eine Bindung des Komplements an einen aus dem Zusammenwirken von Organextrakten und Syphilitiker-serum entstehenden Komplex handelt, sondern um eine Komplementzerstörung. Im letzteren Sinne könnte sogar der Umstand sprechen, daß erfahrungsgemäß in ziemlich weiten Grenzen ein Ambozeptor- oder Komplementüberschuß für das Zustandekommen des Wassermannschen Phänomens belanglos ist. Es sei uns gestattet, auch an dieser Stelle an die Untersuchungen von Sachs und Teruuchi zu erinnern, welche die Zerstörung der Komplemente bei Salz-mangel behandeln. Es zeigen sich nämlich einige auffällige Analogien in dem Verhalten der Komplemente bei der Verdünnung mit Wasser und bei der Wassermannschen Reaktion. Für die Zerstörung durch Wasserverdünnung ist in hohem Maße die Qualität des Meerschweinchenserums maßgebend. Auch für die Wassermannsche Reaktion sind Analogien hierzu von einigen Autoren beobachtet worden. Wie ferner Sachs und Altmann zeigen konnten, ist für die Zerstörung der Komplemente im salzfreien Medium die Reaktion in hohem Maße bedeutungsvoll, so daß bei minimalen Schwankungen die Zerstörbarkeit aufgehoben oder restituiert werden kann. Auch dieser Umstand steht in Analogie zu der Beeinflußbarkeit der Wassermannschen Reaktion.

Man könnte nun daran denken, daß die gleiche Zerstörung des Komplements, welche beim Verdünnen mit Wasser eintritt, auch im salzhaltigen Milieu erzielt werden kann, wenn durch andersartige Faktoren die für die Zerstörung wesentliche Alteration des Serums bedingt wird. Für diesen Einfluß wäre dann das Zusammenwirken von Organextrakt und Syphilitiker-serum verantwortlich zu machen. Dazu muß noch bemerkt werden, daß die Zerstörung der Komplemente bei Wasserverdünnung nur dann eintritt, wenn die Serumlösung etwas getrübt ist, aber ein Globulinniederschlag noch nicht entsteht. Wird hingegen durch Ansäuern oder durch Temperaturniedrigung eine Ausfällung von Globulin gebildet, so bleiben die Komplemente auch im salzfreien Medium erhalten. Auch bei der Wassermannschen Reaktion tritt nun ein sichtbarer Niederschlag nicht ein, obwohl dieselben Lipoidagentien, wie das Studium der Ausflockungsreaktionen gezeigt hat, in geeigneten Mengenverhältnissen ebenfalls zu Fällungen führen. Man könnte also daran denken, daß gerade die bei der Wassermannschen Versuchsanordnung eintretende, makroskopisch nicht wahrnehmbare, physikalisch-chemische Alteration zu einer Zerstörung bzw. Unwirksamkeit der Komplemente führt. Wollte man der ursprünglich von Sachs und Teruuchi aufgestellten Hypothese folgen, daß die Zerstörung der Komplemente im salzfreien Medium durch ein im Serum vorhandenes fermentartiges Agens erfolgt, so würde sich für die Syphilisreaktion die Annahme ergeben, daß unter dem Einfluß der syphilitischen Infektion besonders große Mengen eines komplementzerstörenden Ferments gebildet werden, dessen Wirkung erst durch den Zusatz von Organextrakten oder Lipoidlösungen ermöglicht wird.

Wenn auch die hier entwickelten Anschauungen als rein spekulativ erscheinen müssen, so glaubten wir doch auf sie kurz hinweisen zu sollen, weil es immerhin denkbar erscheint, daß sie zur Erklärung des vorläufig nicht präzisierbaren Wesens des Wassermannschen Phänomens vielleicht herangezogen werden könnten.“

Wir haben nun aus unseren Untersuchungen die Schlußfolgerung gezogen, daß die Hydrolabilität des Komplements abhängig ist von einer bestimmten Form der Globulinveränderung, die ein gewisses Optimum nicht überschreiten darf, und für die, abgesehen von der Beschaffenheit des Serums (Labilität der Globuline, Alkaleszenz), Temperatur und Reaktion des Mediums maßgebend sind. Ebenso wie auf die Hydrolabilität des Komplements Alkali und Säure von Einfluß sind, so ist es auch bei der Wassermannschen Reaktion der Fall. Wie sich bereits aus unseren älteren Untersuchungen¹⁾, sowie denjenigen Abramows²⁾ ergibt, hebt im allgemeinen Alkali die Wassermannsche Reaktion auf, während Säure zu einer Verstärkung führt. Indes hängt diese verstärkende Funktion des sauren Mediums von der geeigneten Säurekonzentration ab. Ein Säureüberschuß führt ebenso wie Alkali zu einer Abschwächung oder Aufhebung der Wassermannschen Reaktion.

Der Einfluß der Temperatur, den wir für das Zustandekommen der Hydrolabilität als so wesentlich erkannt haben, ist auch bei der Wassermannschen Reaktion seit den Untersuchungen Jacobsthal's³⁾ durch die sich anschließenden Arbeiten von Guggenheimer⁴⁾, Altmann und Zimmern⁵⁾, Thomsen und Boas⁶⁾ hinlänglich bekannt. Es besteht dabei keineswegs eine einheitliche Gesetzmäßigkeit. Während nämlich die antikomplementäre Wirkung der Extrakte in der Regel bei Temperaturerniedrigung eine Verstärkung erfährt, reagieren manche menschliche Sera nur oder stärker in der Kälte (Jacobsthal), andere aber gerade ent-

1) H. Sachs und K. Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.

2) S. Abramow, diese Zeitschr., Bd. 8, 1910, p. 145.

3) E. Jacobsthal, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 13.

4) H. Guggenheimer, Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 26.

5) K. Altmann und F. Zimmern, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis, Bd. 111, 1912, p. 837, u. Bd. 116, 1913, p. 871.

6) O. Thomsen und H. Boas, diese Zeitschr., Bd. 18, 1913, p. 516.

gegengesetzt (Guggenheimer)¹⁾. Nun haben wir aber zeigen können, daß auch beim Verdünnen im salzarmen Medium die Komplementinaktivierung einerseits nur in der Kälte, andererseits nur in der Wärme unter sonst gleichen Bedingungen zustande kommen kann. Während bei neutraler Reaktion die Hydrolabilität nur in der Wärme, nicht in der Kälte in Erscheinung tritt, genügt ein geringer Alkalizusatz, um die Verhältnisse direkt umzukehren. Die Ursache ist darin zu suchen, daß die Temperaturerniedrigung zu einer Begünstigung, Alkalizusatz aber zu einer Abschwächung der Globulinveränderung im salzarmen Medium führt. Kälte + alkalische Reaktion können sich derart das Gleichgewicht halten, so daß bei 0° die Bedingungen denjenigen bei 37° im neutralen Medium entsprechen, während Wärme + Säure bei höherer Temperatur den Bedingungen in der Kälte und bei neutraler Reaktion gleichkommt.

Wenn man nun geneigt ist, anzunehmen, daß die Komplementinaktivierung bei der Wassermannschen Reaktion der Hydrolabilität wesensgleich ist, und wenn man andererseits sieht, daß manche Sera nur in der Wärme, andere nur in der Kälte positive Wassermannsche Reaktion geben, so liegt es nahe, anzunehmen, daß auch hierfür sekundäre Eigenschaften der Patientensera maßgebend sind, die von Fall zu Fall variieren können. Ob man dabei die Unterschiede in Schwankungen des Alkaleszenzgrades oder in Verschiedenheiten der Labilität oder Stabilität der Globuline erblickt, ist zunächst gleichgültig. Auf Grund dieser Betrachtungen gelangten wir zu der Fragestellung, ob es durch Veränderung der Reaktion des Mediums möglich ist, Unterschiede, welche zwischen dem Ergebnis der Wassermannschen Reaktion bei 0° und bei 37° bestehen, auszugleichen oder sogar in das Gegenteil überzuführen. Von diesem Gesichtspunkte aus glaubten wir die sich uns aufdrängende Anschauung ex-

1) Schon Satta und Donati, Seligmann und Pinkus hatten gezeigt, daß Temperaturerniedrigung bis auf -10° das Ergebnis bei der Wassermannschen Reaktion nicht wesentlich ändert. Nach Lange sind bei manchen Seris durch starke Abkühlung (rasches Gefrieren) in der ersten Phase die Bedingungen sogar optimal; d. h. es genügte eine Einwirkung von wenigen Sekunden vor dem Blutzusatz zur positiven Reaktion.

perimentell auf ihre Richtigkeit prüfen zu können, und so entstanden die vor vielen Jahren ausgeführten Versuche, über die wir uns im folgenden zu berichten erlauben möchten.

Bei unseren Untersuchungen über die Abhängigkeit der Wassermannschen Reaktion von der Temperatur haben wir beobachtet, daß in solchen Fällen, die bei der üblichen Anordnung mit 10-fach verdünntem Patientenserum einen Unterschied nicht erkennen ließen, bei geringeren Serum-mengen trotzdem Unterschiede auftreten können, und so erklärt es sich, daß wir zuweilen mit geringeren Serummengen arbeiteten, als es üblich ist, wie das auch in dem folgenden Versuchsbeispiel der Fall war.

Absteigende Mengen Normalsalzsäure (Volumen 0,5 ccm) wurden unter Zusatz von je 0,5 ccm 20-fach verdünnten inaktivierten Patientenserums und je 0,25 ccm 6-facher Verdünnung eines alkoholischen Organ-extraktes mit je 0,25 ccm 5-fach verdünnten Meerschweinchenserums:

A. $1\frac{1}{4}$ Stunde im Brutschrank,

B. $1\frac{1}{4}$ Stunde im Eistopf bei 0°

digiert.

Sodann erfolgte Zusatz von Hammelblut und Ambozeptorverdünnung (Volumen des Gemisches 1 ccm) und weiterer Aufenthalt im Brutschrank.

Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

Einfluß von HCl auf die Wassermannsche Reaktion bei 37° und bei 0° .

Mengen der n·HCl ccm	Hämolyse nach vorherigem Digerieren absteigender Mengen von HCl mit Extrakt, Patientenserum und Meerschweinchenserum	
	A bei 37°	B bei 0°
$\frac{1}{100} \cdot 0,5$	0	komplett
0,4	0	"
0,3	Spürchen	"
$\frac{1}{800} \cdot 0,5$	fast komplett	"
0,4	komplett	"
0,3	"	stark
0,25	"	Spur
0,2	"	Spürchen
0	"	0

Wie die unterste Reihe der Tabelle zeigt, handelt es sich hier um ein Serum, das in der vorliegenden Anordnung nur in der Kälte, nicht in der Wärme positiv reagiert. Während nun, wie die Kolonne A der Tabelle zeigt, geeigneter

Salzsäurezusatz bei 37° zum Zustandekommen der positiven Reaktion führt, bedingen bereits geringere Salzsäuremengen eine Aufhebung der in neutralem Medium positiven Reaktion in der Kälte. Wir haben hier also mit einem und demselben Serum durch veränderte Reaktion des Mediums drei verschiedene Typen vor uns:

- 1) Neutrale Reaktion; nur in der Kälte, nicht in der Wärme positiv;
- 2) Zusatz von $\frac{1}{800} \cdot 0,4$ Normalsalzsäure; sowohl in der Kälte, als auch in der Wärme negativ;
- 3) Zusatz von $\frac{1}{400} \cdot 0,4$ Normalsalzsäure; nur in der Wärme, nicht in der Kälte positiv.

Folgt man unserem Vergleich zwischen Hydrolabilität und Wassermannscher Reaktion, so ist dieses Versuchsergebnis damit in guten Einklang zu bringen. Die Globulinveränderung reicht an und für sich in der Wärme nicht aus, kommt aber in der Kälte in geeigneter Weise zustande. Säurezusatz begünstigt die Bedingungen und führt demnach in der Wärme zu positiver Reaktion. In der Kälte aber bedeutet dieses begünstigende Moment ebenso wie bei der Inaktivierung im salzarmen Medium schon bei geringfügiger Säurekonzentration ein Ueberschreiten des Optimums, und die Komplementinaktivierung bleibt dementsprechend aus.

Nun reagierten freilich die in der obigen Anordnung untersuchten Sera meist im neutralen Medium bei 0° und bei 37° gleichartig. In Uebereinstimmung mit dem mitgeteilten Versuchsbeispiel war aber die Regel, daß die positive Reaktion bei 0° durch Salzsäurezusatz verhältnismäßig leicht aufgehoben werden konnte. Es genügten hierzu geringe Salzsäurekonzentrationen, während bei 37°, wenn die Ueberführung in ein negatives Ergebnis durch Salzsäure überhaupt gelang, hierzu größere Mengen erforderlich waren. Es war also meist ziemlich leicht, durch Salzsäurezusatz die Bedingungen so zu verändern, daß die Wassermannsche Reaktion nur in der Wärme, nicht in der Kälte positiv ausfiel.

Dagegen führten unsere Bemühungen, in entsprechender Anordnung einen verschiedenen Einfluß der Natronlauge bei

0° und bei 37° zu zeigen, bisher nicht zu einheitlichen Ergebnissen. Meist war bei denjenigen Serumproben, die in neutraler Verdünnungsflüssigkeit bei 0° und bei 37° übereinstimmend positiv reagierten, ein wesentlicher Unterschied in dem Einfluß der Natronlauge nicht festzustellen. In einigen Fällen genügten sogar bei 0° geringere Natronlaugenmengen zur Umwandlung der positiven in eine negative Reaktion, als bei 37°. Andere Sera zeigten jedoch das entgegengesetzte Verhalten. Zuweilen bewirkten aber kleine Natronlaugenmengen bei partieller Hemmung im neutralen Medium eine Verstärkung der Reaktion in der Wärme oder auch in der Kälte. Auch in diesen Fällen führten größere Natronlaugenkonzentrationen, entsprechend unseren früheren Angaben, zu einer Aufhebung der Reaktion.

Wenn demnach die Bedingungen auch vielfach variieren und sich vorläufig unserer Betrachtungsweise nicht einheitlich unterordnen lassen, so scheint uns jedenfalls die Tatsache von Interesse zu sein, daß es durch Veränderung der Reaktion des Mediums möglich ist, mit einem und demselben Serum einerseits nur in der Kälte, andererseits nur in der Wärme eine positive Wassermannsche Reaktion zu erhalten. Da nun in bezug auf Globulinveränderungen ebenso wie die Reaktion des Mediums auch die physikalische Beschaffenheit der Eiweißstoffe des Serums von Bedeutung sein kann, so wird man annehmen dürfen, daß für ein verschiedenes Verhalten der Sera bei 0° und bei 37° die sekundären Eigenschaften des Serums von wesentlicher Bedeutung sind.

Nun kommt aber als weiteres Moment bei der Wassermannschen Reaktion noch der Extrakt hinzu, und es liegt wohl die Annahme nahe, daß Extraktbeschaffenheit und ihre Beeinflussung durch Alkali oder Säure zu Ergebnissen führen können, die eben den Erwartungen nicht ohne weiteres entsprechen. Von diesem Gesichtspunkte aus sind wir in einer größeren Zahl von Versuchen in andersartiger Anordnung vorgegangen. Wir haben nämlich alkoholische Rinderherzextrakte angesäuert oder alkalisiert und dann mit diesen neutralen, sauren und alkalischen Extraktproben in üblicher Weise die Wassermannsche Reaktion ausgeführt. Auch unter

diesen Bedingungen zeigte sich der Einfluß der Säure darin, daß die Reaktion vielfach nur in der Wärme positiv blieb, in der Kälte aber abgeschwächt oder aufgehoben wurde.

Je 20 ccm eines alkoholischen Rinderherzextraktes wurden

I. ohne weiteren Zusatz gelassen,

II. mit 0,4 ccm Normalsalzsäure,

III. mit 0,7 ccm Normalsalzsäure

gemischt.

Sodann wurden absteigende Mengen der 6-fach verdünnten Extraktproben (I—III) mit je 0,25 ccm 10-fach verdünnten, inaktivierten Patientenserums und je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums $1\frac{1}{4}$ Stunde bei 37° und bei 0° digeriert. Sodann erfolgte Zusatz von je 0,5 ccm einer Mischung von gleichen Teilen Hammelblutaufschwemmung und Ambozeptorverdünnung.

Das Ergebnis, unter Benutzung von 4 positiven Serumproben, zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Mengen der 6-fachen Extrakt- verdün- nung ccm	Ergebnis der Wassermannschen Reaktion beim Digerieren von Extrakt, Patientenserum und Meerschweinchenserum							
	bei 37°				bei 0°			
	Serumproben				Serumproben			
	a	b	c	d	a	b	c	d
I neutral	0,25	0	0	0	Spürchen	0	0	Spürchen
	0,15	Spürchen	0	0	Spur	0	0	Spur
	0,1	wenig	0	0	stark	0	0	wenig
	0	komplett	komplett	kompl.	komplett	komplett	komplett	komplett
II + 0,4 HCl	0,25	0	0	0	f. kompl.	f. kompl.	0	komplett
	0,15	0	0	0	f. kompl.	mäßig	0	f. kompl.
	0,1	Spürchen	0	0	stark	Spur	0	mäßig
	0	komplett	komplett	kompl.	komplett	komplett	komplett	komplett
III + 0,7 HCl	0,25	Spürchen	0	0	komplett	komplett	Spürchen	komplett
	0,15	Spur	0	0	"	"	0	"
	0,1	Spur	Spürchen	0	"	"	0	"
	0	komplett	komplett	kompl.	"	"	komplett	"

Die Tabelle zeigt auch hier, daß Zusatz von Salzsäure in 3 Fällen bei 0° , aber nicht bei 37° zu einer Aufhebung der positiven Reaktion führt¹⁾.

1) Natürlich wurde dem Verhalten der angesäuerten Extrakte in bezug auf Eigenhemmung Rechnung getragen. Es ergab sich zwar, daß

Bei geringerem Säurezusatz (II), der nur eine Abnahme, noch kein vollständiges Erlöschen der Reaktion bewirkt, ist zugleich die Unregelmäßigkeit des Ergebnisses charakteristisch. Die größeren Extrakt Dosen verursachen hier weniger starke Hemmung als die kleineren. Es dürfte sich das ohne weiteres dadurch erklären, daß eben bei der hier geübten Versuchsanordnung mit der Extraktmenge auch die Azidität abnimmt. Nicht ohne Interesse dürfte in diesem Zusammenhang aber ein Hinweis darauf sein, daß schon Guggenheimer das Optimum der Hemmung bei der Kältemethode in vielen Fällen gerade bei geringeren, und nicht bei den größten Extrakt Dosen fand.

Daß individuelle Unterschiede in der Serumbeschaffenheit in bezug auf die Aufhebbarkeit der positiven Reaktion durch Säurezusatz in der Kälte eine Rolle spielen, wie es die Tabelle (vgl. Serum c) zeigt, ist ohne weiteres verständlich. Charakteristisch ist jedenfalls, daß in der Wärme die geringere Säuremenge noch zu einer Verstärkung der Reaktion führt, und die Abschwächung, welche die größere Säurekonzentration bedingt, im Vergleich zu derjenigen in der Kälte unter sonst gleichen Bedingungen eine sehr geringfügige ist.

Auch in weiteren gleichsinnigen Versuchsreihen, zu denen verschiedene Extrakte benutzt wurden, fanden wir prinzipiell stets dasselbe Verhalten, so daß man wohl schließen darf, daß die Aufhebung der Wassermannschen Reaktion durch Säure in der Kälte im allgemeinen leichter gelingt als in der Wärme.

Jedoch war auch in der hier geschilderten Versuchsanordnung ein einheitlich gerichteter Einfluß der Natronlauge nicht zu demonstrieren. Meist bewirkte Natronlauge sowohl bei 37° als auch bei 0° eine Aufhebung der positiven Reaktion. Immerhin konnte aber in vielen Fällen beobachtet werden, daß unter gleichen Bedingungen die Natronlauge bei 37° eine stärkere Abschwächung bewirkt als bei 0°, sich also hierin umgekehrt verhält wie die Salzsäure, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt:

dabei die hemmende Wirkung in der Wärme stärker zunehmen kann als in der Kälte. In den verwendeten Dosen spielt aber, wie schon das Verhalten zahlreicher negativer Sera zeigte, die antikomplementäre Extraktwirkung ebensowenig wie etwa die hämolytische eine störende Rolle.

Es wurden je 10 ccm alkoholischen Rinderherzextraktes

I. mit 0,2 ccm Aqua destillata,

II. mit 0,2 ccm Normalnatronlauge.

III. mit 0,2 ccm Normalsalzsäure

gemischt.

Unter Verwendung dieser drei Extraktproben wurde nun die Wassermannsche Reaktion in üblicher Weise, einerseits im Thermostaten, andererseits bei 0° ausgeführt. Die Anordnung entsprach den zu Tabelle II gegebenen Vorbemerkungen.

Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Mengen der 6-fachen Extrakt- verdünnung ccm	Ergebnis der Wassermannschen Reaktion beim Digerieren von Extrakt, Patientenserum und Meerschweinchenserum					
	bei 37°			bei 0°		
	Serumproben			Serumproben		
	a	b	c	a	b	c
I.						
0,25	0	0	0	Spürchen	0	0
0,15	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	0
0	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
II. (NaOH)						
0,25	komplett	komplett	mäßig	komplett	komplett	Spürchen
0,15	„	„	fast kmpl.	„	mäßig	mäßig
0,1	„	„	komplett	„	wenig	stark
0	„	„	„	„	komplett	komplett
III. (HCl)						
0,25	Spürchen	0	0	komplett	fast kmpl.	Spur
0,15	„	0	0	„	0	Spürchen
0,1	0	0	0	„	0	0
0	komplett	komplett	komplett	„	komplett	komplett

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die gewählte Natronlaugekonzentration für Serum a sowohl bei 0° als auch bei 37° zu einer Aufhebung der Wassermannschen Reaktion führt. Dagegen zeigen sich bei den Seris b und c die erwähnten Unterschiede, indem bei 37° durch Alkali eine wesentlich stärkere Abschwächung der Reaktion bedingt wird als bei 0°. Der Säurezusatz hat auch hier, wie es die Regel ist, die Bedingungen wiederum so verändert, daß die Sera nur oder stärker bei 37° reagieren. So wird z. B. das Serum b durch die Alkalisierung des Extraktes derart verändert, daß es nur noch bei 0° positiv reagiert, während

das Serum a bei Ansäuerung des Extraktes nur bei 37°, nicht bei 0° reagiert.

Wir glauben es demnach als ein interessantes Ergebnis unserer Untersuchungen betrachten zu dürfen, daß durch die Willkür des Experimentators in geeigneten Fällen die Bedingungen für ein und dasselbe Serum so gestaltet werden können, daß es entweder nur bzw. stärker in der Kälte, oder nur bzw. stärker in der Wärme reagiert. Die sich aus Tabelle III ergebenden Verhältnisse entsprechen zudem den aus unserer Betrachtung abgeleiteten theoretischen Folgerungen. Bei Alkalizusatz, der der Globulinalteration entgegenzuwirken geeignet ist, führt eben unter Umständen nur noch die die Globulinveränderung begünstigende Temperaturerniedrigung zu einem positiven Ergebnis; bei Säurezusatz, der die Globulinveränderung so begünstigt, daß sie leicht einen die optimalen Bedingungen überschreitenden Grad annimmt, stellt die gleichzeitige Temperaturerniedrigung einen zu großen Ueberschuß dar, während bei höherer Temperatur trotz des Säurezusatzes noch die Komplementinaktivierung zustande kommt.

Wir dürfen aber nicht verschweigen, daß auch bei der zuletzt geschilderten Versuchsanordnung unsere Ergebnisse keineswegs die nach unserer Auffassung zu erwartende Regelmäßigkeit aufwiesen. Je nach den verwendeten Serumproben oder auch bei Verwendung verschiedener Extrakte waren Abweichungen wahrzunehmen. So verfügen wir auch über Erfahrungen, in denen die Natronlauge in der Kälte eine stärkere Aufhebung der Wassermannschen Reaktion als in der Wärme verursachte. Selbst bei gleicher Versuchsanordnung unter Verwendung desselben Extraktes verschoben sich die Verhältnisse bei Natronlaugezusatz derart, daß die Reaktion bei einem Serum stärker in der Kälte, bei einem anderen stärker in der Wärme ausfiel, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt:

Je 20 ccm alkoholischen Rinderherzextraktes wurden

I. mit 0,2 ccm Aqua destillata,

II. mit 0,2 ccm Normalnatronlauge,

III. mit 0,2 ccm Normalsalzsäure

gemischt.

Mit den drei Extraktproben wurde die Wassermannsche Reaktion in üblicher Weise im Thermostaten und bei 0° ausgeführt. (Vgl. die Vorbemerkungen zu Tabelle II und III.)

Das Ergebnis zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Mengen der 6-fachen Extrakt- verdünnung	Ergebnis der Wassermannschen Reaktion beim Digerieren von Extrakt, Patientenserum und Meerschweinchenserum							
	bei 37°				bei 0°			
	Serumproben				Serumproben			
	ccm	a	b	c	d	a	b	c
I.								
0,25	0	0	0	0	0	0	0	0
0,15	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
II. (NaOH)								
0,25	wenig	0	wenig	kompl.	Spürch.	f. kompl.	wenig	kompl.
0,15	stark	Spürch.	f. kompl.	„	Spur	kompl.	f. kompl.	„
0,1	f. kompl.	Spur	kompl.	„	wenig	„	„	„
0	kompl.	kompl.	„	„	kompl.	„	kompl.	„
III. (HCl)								
0,25	0	0	0	0	0	0	wenig	kompl.
0,15	0	0	0	0	0	0	Spur	wenig
0,1	0	0	0	0	0	0	0	„
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

Wie die Tabelle zeigt, reagiert in diesem Versuch, zu dem ein anderer Extrakt als zu dem in Tabelle III notierten verwendet wurde, Serum b bei Natronlaugenzusatz stärker in der Wärme als in der Kälte, während die Sera a und c unter den gleichen Bedingungen in der Kälte eine stärkere Reaktion aufweisen. Bei Säurezusatz zeigt sich auch in diesem Versuch, daß, wenn eine Abschwächung der Reaktion überhaupt eintritt, dies in der Kälte leichter geschieht als in der Wärme.

Es ergibt sich also für den Einfluß der Natronlauge, daß die individuelle Qualität des Serums zu Verschiedenheiten des Versuchsergebnisses führen kann, über deren Ursachen wir vorläufig keineswegs im klaren sind. Es sind dabei verschiedene Momente zu berücksichtigen. So dürfte z. B. die Eigenhemmung des Extraktes und ihre Aufhebbarkeit durch das menschliche Serum eine Rolle spielen. Schon Guggen-

heimer hat gezeigt, daß die Extrakte an und für sich in der Regel in der Kälte stärker antikomplementär wirken als in der Wärme. Unsere eigenen Versuche haben aber — wenigstens bei den von uns benutzten Extrakten — ergeben, daß dieses Ergebnis durch veränderte Reaktion, insbesondere durch Natronlaugenzusatz (aber unter Umständen auch durch HCl) so umgekehrt werden kann, daß der Extrakt in der Wärme stärker antikomplementär wirkt als in der Kälte.

Daß auch gerade Zusatz von Natronlauge auf den alkoholischen Extrakt biologisch verändernd einwirken kann, ohne daß hierfür allein die Veränderung der Reaktion des Mediums verantwortlich zu machen wäre, ergaben besondere Untersuchungen des einen von uns (Sachs), nach denen alkalisierte Extrakte beim Lagern an charakteristischer Reaktionsfähigkeit einbüßen, während ihre Eigenhemmung dabei gelegentlich zunimmt. Es soll später ausführlich über diese Versuche berichtet werden. Hier sei nur erwähnt, daß die Veränderung je nach der Gestaltung der Versuchsbedingungen einerseits in einer Aufhebung der Wassermannschen Reaktion, andererseits aber darin bestehen kann, daß durch solche alkalisierte Extrakte auch unspezifische Reaktionen hervorgerufen bzw. vorgetäuscht werden. Es ist verständlich, daß hierdurch die experimentelle Erforschung des Einflusses der alkalischen Reaktion in der Wärme und in der Kälte nicht unerheblichen Schwierigkeiten begegnen kann, zumal für die zu erwartenden Ausschläge minimale Veränderungen der Reaktion des Mediums maßgebend sein dürften.

Die Tatsache, daß Alkalizusatz zu den Extrakten derart verändernd wirkt, dürfte vielleicht in gewisser Uebereinstimmung mit den von Abramow erhobenen Befunden stehen. Abramow (l. c.) konnte nämlich für wässrige Extraktverdünnungen feststellen, daß Salzsäure die charakteristische Funktion des Organextraktes bereits in recht starken Verdünnungen aufhebt, während ein gleichsinniger Einfluß der Natronlauge nicht wahrnehmbar ist und die Wirkung des Organextraktes sogar durch Vorbehandlung mit größeren Natronlaugemengen anscheinend verstärkt werden kann. Es sei darauf hingewiesen, daß nach Angaben von Sternberg¹⁾ bei der Wassermannschen Reaktion negative Sera durch Zusatz von Natronlauge oder anderen Alkalien positiv werden können. Allerdings

1) C. Sternberg. Wiener klin. Wochenschr., 1914, No. 18.

hat Herr Dr. Urizio in Versuchen, die er im hiesigen Institut entsprechend der Anordnung Sternbergs ausführte, einen derartigen Einfluß der Natronlauge nicht beobachtet. Wir glauben aber, daß für die Verschiedenheit des Versuchsausfalles Unterschiede in der Anordnung und im Verhalten der Extrakte verantwortlich zu machen sind. Der Einfluß der Natronlauge im Sinne der Aufhebung der charakteristischen Reaktionsfähigkeit dürfte an bestimmte Bedingungen gebunden sein, während sonst, wie wir schon erwähnten, Alkalizusatz auch zu einem Erlöschen der Extraktfunktion führen kann. Zu bemerken ist dabei allerdings, daß unsere neueren Erfahrungen über Alkaliwirkung sich auf die alkoholischen Stammlösungen beziehen, während die älteren Versuche Abramows Extraktverdünnungen mit späterer Neutralisation betrafen.

Trotz der Schwankungen der Versuchsergebnisse ergibt sich doch als ersichtliches Resultat unserer Untersuchungen die gegenseitige Beeinflußbarkeit durch Temperaturveränderung einerseits, durch die Reaktion des Mediums andererseits. Beschaffenheit des Serums, Temperatur und Reaktion spielen also hier sicherlich ebenso eine Rolle, wie bei der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium. Von Interesse erscheint dabei ein Vergleich unserer Untersuchungen mit den von Altmann und Zimmern¹⁾ erhobenen Befunden. Diese Autoren haben die Tatsache festgestellt, daß aktive Sera bei der Wassermannschen Reaktion stets in der Wärme stärker reagieren, während sie bei inaktivem Serum, in Bestätigung der Angaben Guggenheimers, zum Teil in der Kälte, zum Teil in der Wärme das Optimum der Reaktion fanden. Schon hieraus hatte sich also ergeben, daß durch einfaches Inaktivieren bei einem und demselben Serum die Verhältnisse so umgekehrt werden können, daß dasselbe aktiv nur oder stärker in der Wärme, inaktiv nur oder stärker in der Kälte reagiert. Die Vermutung von Altmann und Zimmern, daß die Besonderheiten in feineren Reaktionsunterschieden des Serums im Sinne einer vermehrten oder verminderten Alkaleszenz zu suchen sein dürften, wird durch unsere Untersuchungen erheblich verstärkt. Die Veränderungen, welche das Serum durch das Inaktivieren erleidet, können einerseits in einer Erhöhung der Alkaleszenz bzw. Verminderung der Azidität

1) K. Altmann und F. Zimmern, l. c.

bestehen, andererseits in einer Verminderung der Labilität. Beide Faktoren würden zu demselben Ergebnis führen, nämlich zu einer schwereren Beeinflußbarkeit des Serums durch den Extrakt in der Wärme. Es würde damit in Uebereinstimmung stehen, daß, wie unsere Versuche gezeigt haben (vgl. Tabelle I), ein inaktiviertes Serum, das nur in der Kälte positiv reagiert, durch Säurezusatz so verändert werden kann, daß es nur in der Wärme ein positives Resultat ergibt. Durch den Säurezusatz würde das inaktive Serum wieder die Eigenschaft des aktiven Serums annehmen. Unsere Ergebnisse sprechen im Verein mit den Versuchsbefunden von Altmann und Zimmern in der Tat für diesen Zusammenhang.

Nach Altmann¹⁾ äußert sich übrigens der Einfluß der Temperatur in den einzelnen Stadien der Syphilis in verschiedener Weise. Im Primärstadium und im frühen Sekundärstadium wurden bei der Ausführung der Wassermannschen Reaktion in der Wärme mehr positive Resultate erzielt, als in der Kälte. Dagegen überwog im Spätstadium die Empfindlichkeit in der Kälte diejenige in der Wärme. Man könnte zur Erklärung hierfür vielleicht annehmen, daß in den akuten Stadien des Infektionsprozesses in einer Mehrzahl der Fälle eine verminderte Alkaleszenz des Serums besteht, die eben zu einem Ueberwiegen der Wärmereaktion führen müßte, während in den Spätstadien meist eine normale Alkaleszenz des Blutes vorhanden ist, welche die Bedingungen in der Wärme verschlechtert, diejenigen in der Kälte aber begünstigt. Weitere Untersuchungen werden hierüber entscheiden und zugleich die Frage beantworten müssen, inwieweit die von Altmann aufgefundene Gesetzmäßigkeit für die verschiedenartigen Extrakte Geltung besitzt.

Als wesentliches Resultat dieser Arbeit betrachten wir die Feststellung des jedenfalls in vieler Hinsicht parallelen Verhaltens der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium und bei der Wassermannschen Reaktion. Beide Formen der Komplementinaktivierung werden sowohl durch alkalische als auch durch saure Reaktion aufgehoben. Bei beiden Formen wechselt das Ergebnis je nach der Temperatur, bei der sich der Vorgang abspielt. Wir glauben daher auch als letzten Anlaß für die Komplementinaktivierung

1) K. Altmann, l. c.

bei der Wassermannschen Reaktion einen optimalen Grad der Globulinveränderung annehmen zu sollen. Wir sind uns wohl bewußt, daß zu einem vollständigen Ueberblick über die bestehenden Verhältnisse und zu einer präzisen Formulierung der Vorgänge unser Versuchsmaterial lückenhaft ist, zumal wir ja keineswegs unter allen Umständen die theoretisch abzuleitenden Bedingungen erhalten haben. Berücksichtigt man aber die Tatsache, daß ein entscheidender Einfluß der Reaktion oft von eng begrenzten Alkaleszenz- oder Aziditätsgraden abhängig ist, und daß Alkali und Säure bei der Wassermannschen Reaktion nicht nur hemmend oder befördernd auf den Inaktivierungsvorgang, sondern auch destruktiv auf die einzelnen Komponenten einwirken können, so ergeben sich natürliche Grenzen, über die hinaus man einwandfreie Ergebnisse mit der verhältnismäßig einfachen Methodik nicht wird erwarten dürfen. Daß schließlich auch die Beschaffenheit der Extrakte auf den Versuchsausfall von wesentlichem Einfluß sein muß, ergibt sich ja ohne weiteres.

Die Verhältnisse liegen bei der Wassermannschen Reaktion auch dadurch komplizierter als bei der Analyse der Hydrolabilität des Komplements, daß zweierlei Globulinkomponenten im Reaktionsgemisch vorhanden sind, die Globuline des Patientenserums und die Globuline des als Komplementquelle dienenden Meerschweinchenserums. Es sind also dementsprechend zwei Möglichkeiten gegeben. Einmal können die durch Extraktwirkung veränderten Menschenglobuline das antikomplementäre Agens darstellen, dann aber kann auch erst durch das Zusammenwirken des Syphilitiker-serums mit dem Extrakt die Wirkung entstehen, welche das Meerschweinchenserum in gleicher Weise beeinflusst, wie das salzarme Medium. Beide Vorgänge können sich schließlich auch kombinieren. Jedenfalls aber dürfen wir Gewicht auf die von uns einwandfrei festgestellte Tatsache legen, daß Verschiedenheiten des Ergebnisses bei der Wassermannschen Reaktion, die sich bei Temperaturveränderung nachweisen lassen, durch veränderte Reaktion des Mediums umgekehrt

werden können. Hier liegen also zweifellos ganz ähnliche Verhältnisse vor, wie wir sie von der Hydrolabilität des Komplements her kennen, und wir glauben somit in unseren Versuchsergebnissen einen Beleg für nahe Beziehungen zwischen denjenigen Vorgängen, welche zur Hydrolabilität und zur positiven Wassermannschen Reaktion führen, erblicken zu dürfen.

Die Vorstellungen, die sich aus unseren Versuchen und Betrachtungen ergeben, und die der von uns bereits im Anschluß an die Analyse der Hydrolabilität des Komplements geäußerten Vermutung entsprechen, begegnen sich mit der Betrachtungsweise anderer Autoren. Schon Elias, Neubauer, Porges und Salomon sahen die Ursache der besonderen Reaktionsfähigkeit des Luesserums in einer geringeren Stabilität der Globuline gelegen; während der eine von uns (Sachs) auf die Möglichkeit einer Denaturierung im Sinne von Azidalbuminbildung aufmerksam machte. Es würde jedoch zu weit führen, wollten wir hier die Literatur über diejenigen Arbeiten (vgl. insbesondere Landsteiner, Seligmann, Much u. v. a.), welche die Wassermannsche Reaktion dementsprechend als den Ausdruck einer Kolloidfällungsreaktion betrachten, ausführlich behandeln. Es mag daher genügen, auf die zusammenfassenden Darstellungen, die von uns früher (l. c.) und neuerdings von autoritativer Seite [A. v. Wassermann und C. Lange¹⁾] im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen gegeben worden sind, zu verweisen.

Uebereinstimmend kann man wohl sagen, daß den älteren Anschauungen die Annahme einer Komplementabsorption durch entstehende, wenn auch nicht notwendig sichtbare, Präzipitate zugrunde lag. Nun hat sich aber der erwartete Parallelismus zwischen Ausflockungsmethoden und Wassermannscher Reaktion keineswegs als durchweg bestehend erwiesen. Meist lassen die als Ersatzmethoden angegebenen Ausflockungsverfahren das der Wassermannschen Reaktion

1) A. v. Wassermann und C. Lange. Handb. der pathog. Mikroorganismen, 3. Aufl. Bd. 7, 1913, p. 951.

in so hervorragendem Maße eigene, für Syphilis charakteristische Gepräge vermissen. Unserer schon im Jahre 1909 geäußerten Vermutung entspricht es aber, daß bei der Wassermannschen Versuchsanordnung gerade eine besondere, makroskopisch nicht wahrnehmbare, physikalisch-chemische Alteration zur Inaktivierung des Komplements führt. Aber auch in dieser Hinsicht ist unsere Auffassung derjenigen anderer Autoren verwandt. Insbesondere verdient hier die bekannte Arbeit U. Friedemanns hervorgehoben zu werden. Schon Friedemann¹⁾ hat auf experimenteller Basis das Gemeinsame verschiedener Formen der Komplementinaktivierung, insbesondere auch bei der Wassermannschen Reaktion und bei der spezifischen Komplementbindung in dem vor allem von ihm begründeten Prinzip der antikomplementären Globulinwirkung gesucht. Nach Friedemann besteht bei Syphilis eine Veränderung der Globuline derart, daß der physiologische Antagonismus zwischen Albumin und Globulin aufgehoben und das letztere daher der Extraktwirkung zugänglich ist. Die Ursache der antikomplementären Wirkung der Globuline erblickt Friedemann in ihrem Gehalt an Eiweißseifenverbindungen. Jedenfalls dürfte es auch der Annahme Friedemanns entsprechen, daß eigentlich nicht der Komplex von Extrakt und Luesserum, sondern die in geeigneter Weise veränderten Globuline das antikomplementäre Agens darstellen.

Wir müssen außerdem hier die Arbeiten von P. Schmidt²⁾ und Liebers³⁾, sowie von Hirschfeld und Klinger⁴⁾ hervorheben, die auf Grund andersartiger Versuche ähnliche Schlußfolgerungen gezogen haben und, wie auch Friedemann, die Komplementinaktivierung bei der Wassermannschen Reaktion mit derjenigen beim Verdünnen im salzarmen Medium und anderen Inaktivierungsformen vergleichen. Schmidt hat

1) U. Friedemann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 67, 1910, p. 279.

2) P. Schmidt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, 1911, p. 513; Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloide, Bd. 10, 1912, Heft 1.

3) M. Liebers, Arch. f. Hyg., Bd. 80, 1913, p. 29.

4) L. Hirschfeld und R. Klinger, diese Zeitschr., Bd. 21, 1914, p. 40; Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25.

im besonderen auf einen Zusammenhang der Wassermannschen Reaktion mit geringer Opaleszenz oder Trübung der Globulinlösung aufmerksam gemacht und die Ursache der Wassermannschen Reaktion in dem besonderen Dispersitätsgrad der Luesglobuline erblickt. Es entspricht auch unserer Auffassung, die wir schon aus unseren Versuchen über die Hydrolabilität des Komplements abgeleitet haben, daß die antikomplementäre Wirkung dann entsteht, wenn die Serumlösung etwas getrübt ist, aber ein Globulinniederschlag noch nicht entsteht, daß also, mit anderen Worten, eine ganz bestimmte und begrenzte Vergrößerung der „Dispersität“ die Vorbedingung für die antikomplementäre Wirkung ist.

Wir müssen nun wohl annehmen, daß die Möglichkeit zu dieser geeigneten Globulinveränderung an einen ganz bestimmten physikalisch-chemischen Zustand im Serum gebunden ist, der für Syphilis charakteristisch ist¹⁾. Dieser Zustand braucht aber nicht ohne weiteres mit demjenigen identisch zu sein, der zu makroskopisch sichtbaren Fällungserscheinungen führt.

So verliert z. B. auch Meerschweinchenserum durch Lagern oder durch kurzes Erhitzen die Möglichkeit, durch Verdünnen im salzarmen Medium inaktiviert zu werden. Auch durch Säurezusatz kann in diesem Falle eine ausgesprochene Hydrolabilität nicht mehr erzielt werden, obwohl es durch den gleichen Säurezusatz möglich ist, die durch das Lagern oder durch das Erwärmen verminderte, makroskopisch sichtbare Fällbarkeit der Globuline wieder in Erscheinung zu bringen.

Wir möchten also annehmen, daß die Fähigkeit, zu der für die Wassermannsche Reaktion erforderlichen Globulin-

1) Wie die für Syphilis charakteristische Veränderung zustande kommen kann, soll hier nicht näher erörtert werden. Es erscheint wohl möglich, daß Verschiebungen in dem Lipoidgehalt des Blutes hierfür in Betracht kommen, und daß Lipoid-Eiweißverbindungen (vgl. Friedemann) zu der maßgebenden physikalisch-chemischen Beschaffenheit führen. Nach Versuchen des einen von uns (Sachs) scheint es möglich zu sein, inaktive Sera von Nichtsyphilitikern durch geeigneten Zusatz von oleinsaurem Natrium so zu verändern, daß sie positive Wassermannsche Reaktion ergeben.

veränderung zu führen, an andere Serumqualitäten gebunden ist, als die für die makroskopischen Fällungen maßgebende Serumbeschaffenheit. Dabei kann man annehmen, daß im allgemeinen die für die Wassermannsche Reaktion erforderliche Serumqualität auch zur sichtbaren Ausflockung geeignet ist, daß aber andererseits normale Sera durch sekundäre Momente (z. B. Verschiedenheiten der Alkaleszenz bzw. Azidität) zu den gleichen Fällungserscheinungen führen können, ohne daß sie dadurch zur Wassermannschen Reaktion geeignet werden.

Wir haben ¹⁾ schon vor vielen Jahren darauf hingewiesen, daß die beim Verdünnen mit Wasser eintretende Ausflockung (Klausnersche Reaktion) durch verschiedenartige Eiweißfällungsmittel verstärkt werden kann. Insbesondere hat Sachs ²⁾ gezeigt, daß man die Klausnersche Reaktion durch Säure verstärken (insbesondere bei Verwendung inaktiven Serums), durch Alkali aufheben kann. Sachs hat zugleich in dem Zusatz von verdünnter Salzsäure zum Serum ein Mittel angegeben, um die Klausnersche Reaktion deutlicher zu gestalten, ohne ihr aber dadurch eine größere Spezifität für Syphilis zu verleihen.

Man kann wohl in der Tat bei den meisten Globulinfällungsreaktionen mit negativem Serum durch geeigneten Säurezusatz ein positives Ergebnis erhalten, ohne daß es aber gelingt, durch die gleiche Maßnahme ein bei der Wassermannschen Reaktion negatives Serum in ein positives umzuwandeln. Der für die Wassermannsche Reaktion gerade erforderliche minimale Grad der Globulinveränderung würde demnach an eine ganz bestimmte Beschaffenheit des Serums gebunden sein. Man wird auch zu berücksichtigen haben, daß die Veränderungen, welche unter den Bedingungen der Wassermannschen Reaktion entstehen, durch den Zusatz von Blut und Ambozeptor einen zeitlich begrenzten Abschluß finden, während man ja bei den Fällungsreaktionen in der Regel

1) H. Sachs und K. Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 10, p. 522.

2) H. Sachs, La Semaine médicale, 24. Juni 1908.

länger beobachtet und dadurch eine derart scharfe zeitliche Grenze kaum zu ziehen ist.

Dahingestellt darf es zunächst bleiben, ob bei der Wassermannschen Reaktion die antikomplementär wirkende Globulinveränderung im Patientenserum oder im Meerschweinchen-serum oder schließlich in beiden Komponenten entsteht. Man könnte ja dem Patientenserum einerseits die Rolle zuschreiben, durch den Extrakt direkt zum antikomplementären Agens umgewandelt zu werden, andererseits aber auch annehmen, daß aus dem Zusammenwirken von Extrakt und Patientenserum erst der geeignete Einfluß auf die Meerschweinchenglobuline entsteht. Zwischen diesen beiden Möglichkeiten ist nicht ohne weiteres zu entscheiden. Erwähnen möchten wir nur, daß die von uns zuerst gezeigte Tatsache, daß aktive Sera bei der Wassermannschen Reaktion stärker, aber unter Umständen auch uncharakteristisch reagieren, mit unserer Auffassung wohl vereinbar ist. Es entspricht das der nach Sachs und Teruchi für die Hydrolabilität des Komplements geltenden Erscheinung, daß Meerschweinchen-serum seine Inaktivierbarkeit im salzarmen Medium durch kurzes Erhitzen verliert. Wenn also der Extrakt bzw. die Kombination von Extrakt und Luesserum in ihrer Wirkung wesensgleich sind mit der Salzarmut des Mediums, so ist es verständlich, daß auch das normale Menschen-serum eine thermolabile Quote enthält, die durch Extraktbeeinflussung zur Komplementinaktivierung führen kann.

Jedenfalls glauben wir, auf Grund unserer Untersuchungen, entsprechend der von uns zuerst geäußerten Vermutung und in Uebereinstimmung mit Friedemann, P. Schmidt, Liebers, Hirschfeld und Klinger in der Komplementinaktivierung bei der Wassermannschen Reaktion ein Analogon zu andersartigen Formen der Komplementinaktivierung erblicken zu sollen. Das Gemeinsame der Erscheinungen ist die Globulinveränderung, die, wie wir schon für die Inaktivierung im salzarmen Medium gezeigt haben, einen bestimmten Grad nicht überschreiten darf.

Zusammenfassung.

1) Die Wassermannsche Reaktion kann sowohl durch alkalische, als auch durch saure Reaktion des Mediums aufgehoben werden.

2) Die Aufhebung der Wassermannschen Reaktion durch Säure gelingt in der Kälte leichter als in der Wärme.

3) Bei Seris, die im neutralen Medium nur in der Kälte positiv reagieren, können die Bedingungen durch Säurezusatz so verändert werden, daß sie nur in der Wärme positiv reagieren.

4) Bei der Analyse des Einflusses der alkalischen Reaktion unter Berücksichtigung der Verhältnisse in der Wärme und in der Kälte waren die Ergebnisse nicht einheitlich. Es entstehen dabei Schwierigkeiten durch die Einwirkung des Alkalis auf den Extrakt, die sich einerseits in einer Aufhebung der charakteristischen Reaktionsfähigkeit, andererseits in einem unspezifischen Verhalten äußern können.

5) Jedenfalls ist es in geeigneten Fällen möglich, die Bedingungen durch Veränderung der Reaktion des Mediums für ein und dasselbe Serum willkürlich so zu gestalten, daß es entweder nur bzw. stärker in der Kälte oder nur bzw. stärker in der Wärme reagiert.

6) Die Wassermannsche Reaktion zeigt also in bezug auf den Einfluß der Temperatur und der Reaktion des Mediums Analogien zu der Inaktivierung des Komplements im salzarmen Medium. Auch für das Zustandekommen der Wassermannschen Reaktion dürfte daher ein bestimmter Grad der Globulinveränderung maßgebend sein.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich, stellvertretender Direktor: Prof. Dr. H. Sachs).]

Ueber Komplementinaktivierung durch Bakterien.

(Ein Beitrag zur biologischen Bedeutung physikalischer Serumveränderungen,
mit Bemerkungen zur Frage der Entstehung des Anaphylatoxins.)

Von **H. Ritz** und **H. Sachs**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Januar 1917.)

Seitdem die lytischen Serumwirkungen durch das Prinzip der Komplementbindung und vor allem durch die Wassermannsche Syphilisreaktion eine hervorragende serodiagnostische Anwendung gefunden haben, erscheint das Studium der antikomplementären Vorgänge nicht nur in theoretischer, sondern auch in praktischer Hinsicht von größter Bedeutung. Die Arbeiten des letzten Jahrzehnts haben das Verständnis der die Komplementinaktivierung bedingenden Faktoren vielfach vertieft und erweitert, nicht allein durch den Nachweis der Tatsache, daß die Komplementfunktion in verschiedene Komponenten zerlegbar ist, sondern vor allem auch durch eine tiefer gehende Erkenntnis der Mechanismen, die zur antikomplementären Funktion, bzw. zur Komplementinaktivierung führen.

Insbesondere hat sich seit der Feststellung der Komplementinaktivierung im salzfreien Medium durch Sachs und Teruuchi¹⁾ gezeigt, daß es Formen der Komplementinaktivierung gibt, deren Wesen in einer indirekten Wirkung besteht. Unter dieser indirekten Wirkung ist dabei zu verstehen, daß das „Komplement“ von dem antikomplementären Agens nicht direkt angegriffen wird, sondern daß es, um in-

1) H. Sachs und Y. Teruuchi, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 16, 17, 19.

aktiviert zu werden, der Vermittlung von Serumbestandteilen bedarf. Zum ersten Male haben das Sachs und Teruuchi bei der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium („Hydrolabilität“ des Komplements) erwiesen, und zwar wesentlich durch die Entdeckung der Tatsache, daß die Komplementinaktivierung von der Serumkonzentration und von der Beschaffenheit des als Komplementträger dienenden Meer-schweinchenserums abhängig ist. Die Abhängigkeit von der Serumkonzentration äußert sich in dem paradoxen Umstande, daß die Komplementinaktivierung innerhalb bestimmter Grenzen proportional der Serumkonzentration, also dem Komplementgehalt, zunimmt. Die Abhängigkeit von der Serumbeschaffenheit kann sogar durch willkürliche Eingriffe (Lagern, Erwärmen) demonstriert werden. Die ursprüngliche Hypothese von Sachs und Teruuchi, daß ein komplementzerstörendes Ferment im Serum, das nur im salzarmen Medium wirkt, die maßgebende Vermittlerrolle spielt, wurde sehr bald aufgegeben. Sachs und Altmann¹⁾ konnten nämlich kurz danach und im Anschluß an die Arbeit von Tsuda²⁾ zeigen, daß die Fermenthypothese zum mindesten überflüssig ist, ja sogar bei einer näheren Analyse zu unnötigen Komplikationen führt, daß aber die Verhältnisse klar zu übersehen sind, wenn man für das Zustandekommen der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium eine Globulinveränderung bestimmten Grades als das Maßgebende ansieht. Die Untersuchungen, welche Sachs und Altmann zu dieser Auffassung führten, sind erst jüngst ausführlich mitgeteilt worden³⁾. Hier sei nur erwähnt, daß Sachs und Altmann von vornherein die Möglichkeit erörterten, „daß die gleiche Zerstörung des Komplements, welche beim Verdünnen mit Wasser eintritt, auch im salzhaltigen Milieu erzielt werden kann, wenn durch andersartige Faktoren die für die Zerstörung wesentliche Alteration des Serums bedingt wird“.

1) H. Sachs, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 42, 1908, Beiheft, p. 174; vgl. auch H. Sachs und K. Altmann, Handb. der pathogenen Mikroorganismen, 2. Ergänzungsband, 1909, p. 455.

2) K. Tsuda, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 8.

3) H. Sachs und K. Altmann, Biochem. Zeitschr., Bd. 78, 1916, p. 46.

Die späteren Ergebnisse der Forschung haben diese Ausblicke durchaus als richtig erwiesen, und es hat sich ergeben, daß eine Reihe von anderen antikomplementären Wirkungen, die man gewohnt war, als Folge direkter Reaktionen zwischen antikomplementär wirkenden Stoffen und dem Komplement aufzufassen, indirekt durch Vermittlung anderer Serumstoffe zur Wirkung gelangen, und man geht, zumal in Berücksichtigung der Arbeiten von U. Friedemann¹⁾, P. Schmidt²⁾, P. Schmidt und Liebers³⁾, sowie Hirschfeld und Klinger⁴⁾, nicht fehl, auch hierbei die Vermittlerrolle in einer eigenartigen Globulinveränderung des Serums zu erblicken. Eine zusammenfassende Darstellung der hier in Betracht kommenden Einflüsse, von denen zunächst die antikomplementäre Cobragiftwirkung zu nennen ist, und deren allgemeiner biologischen Bedeutung ist jüngst von dem einen von uns⁵⁾ an anderer Stelle gegeben worden.

Im folgenden wollen wir nun über ältere, im Jahre 1911 ausgeführte Untersuchungen berichten, die in gleichem Sinne zu neuartigen Aufklärungen über die antikomplementäre Wirkung von Bakteriensuspensionen geführt haben. Schon vor längerer Zeit haben wir mitgeteilt⁶⁾, daß zwischen der antikomplementären Wirkung von Bacillensuspensionen und des Cobragiftes ein enger Parallelismus besteht. In beiden Fällen wird nämlich, wie die Arbeiten aus dem hiesigen Institut gezeigt haben, nicht das gesamte Komplement inaktiviert, vielmehr ist das inaktivierte Komplement sowohl durch die Globulinfraktion als auch durch die Albuminfraktion (Mittelstück und Endstück) restituierbar. Es konnte fernerhin gezeigt

1) U. Friedemann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 67, 1910, p. 279.

2) P. Schmidt, ebenda, Bd. 69, 1911, p. 513; Zeitschr. f. Chem. u. Industrie der Kolloide, Bd. 10, 1912, Heft 1.

3) P. Schmidt und M. Liebers, diese Zeitschr., Bd. 19, 1913, p. 373, und Bd. 22, 1914, p. 220; vgl. auch M. Liebers, Arch. f. Hyg., Bd. 80, 1913, p. 29.

4) L. Hirschfeld und R. Klinger, diese Zeitschr., Bd. 21, 1914, p. 40; Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25; Biochem. Zeitschr., Bd. 70, 1915, p. 398.

5) H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 52.

6) H. Ritz und H. Sachs, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, 1911, Beiheft, p. 43.

werden, daß die Art der Inaktivierung derart ist, daß eine Reaktivierung auch durch die sogenannte „3. Komponente“, d. h. durch Meerschweinchenserum, das durch Erhitzen inaktiviert ist, gelingt¹⁾.

Bei dieser Sachlage mußte es von Interesse erscheinen, zu untersuchen, ob auch im übrigen zwischen der Komplementinaktivierung durch Cobragift und derjenigen durch Bakterien Analogien aufzufinden sind, die eben durch die indirekte Art der antikomplementären Wirkung bedingt sein müssen. Für die Inaktivierung durch Cobragift haben die Arbeiten von Sachs und Omorokow (l. c.), die sich an die Untersuchungen Brauns²⁾ anschlossen, bereits ergeben, daß die Komplementinaktivierung mit der Serumkonzentration zunimmt. Auch ist bekannt, daß die Cobragiftwirkung nur bei höherer Temperatur, nicht bei 0° stattfindet.

Was nun die Komplementinaktivierung durch Bakterien anlangt, so hat schon vor vielen Jahren, wohl als erster v. Dungern³⁾ gezeigt, daß Bakterienaufschwemmungen eben so wie die verschiedenartigen Gewebszellen antikomplementär wirken, und Ehrlich und Sachs⁴⁾ haben die Auffassung vertreten, daß es sich in diesen Fällen nicht um eine Bindung nach Art der durch Ambozeptorwirkung veranlaßten handelt, sondern haben als Ursache physikalische Momente vermutet.

Unsere Versuche, die sich zunächst nur auf das Verhalten der *Prodigiosus* bacillen beziehen, haben Bedingungen kennen gelehrt, die auf einen eigenartigen Mechanismus gewisser antikomplementärer Bakterienwirkungen schließen lassen, und die den geäußerten Erwartungen entsprachen.

Die benutzten Bacillenaufschwemmungen wurden in der Weise gewonnen, daß der Rasen einer 24-stündigen Schrägagarkultur in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen wurde.

Als hämolytisches System diente Hammelblut, das inaktivierte Serum mit Hammelblut immunisierter Kaninchen (Ambozeptor) und Meerschwein-

1) H. Sachs und G. Bolkowska, diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, p. 778. — H. Sachs und L. Omorokow, ebenda, Bd. 11, 1911, p. 710. — H. Ritz, ebenda, Bd. 13, 1912, p. 62, und Bd. 15, 1912, p. 145.

2) H. Braun, Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, p. 65.

3) E. v. Dungern, Münch. med. Wochenschr., 1900, No. 20.

4) P. Ehrlich und H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1902, No. 14/15.

chenserum (Komplement). Die Blutkörperchen wurden stets mit dem Ambozeptor vorher beladen, indem sie etwa mit dem 10-fachen Multiplum der Ambozeptoreinheit digeriert, sodann abzentrifugiert und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden. Ueber die weiteren Einzelheiten geben die mitgeteilten Versuchsergebnisse Aufschluß. Der Grad der eingetretenen Hämolyse ist nach der Skala „komplett — fast komplett — stark — mäßig — wenig — Spur — Spürchen — 0“ beurteilt.

Zunächst erwies sich nun beim Mischen absteigender Mengen der Bacillenaufschwemmungen mit gleichen Mengen des Meerschweinchensersums die antikomplementäre Wirkung bei 0° erheblich reduziert oder sogar ganz aufgehoben. Schon hierin besteht also eine Uebereinstimmung mit dem Verhalten des Cobragiftes, das gegenüber der Annahme einer einfachen Absorption des Komplements vielleicht bereits Bedenken hervorrufen könnte. Nicht unerwähnt soll auch bleiben, daß die antikomplementäre Wirkung der Prodigiosusbacillen eine gewisse Zeit des Digerierens mit dem Meerschweinchenserum erfordert. Beim sofortigen Mischen mit Blut und Ambozeptor ist eine antikomplementäre Wirkung nicht wahrzunehmen. Die letztere ist also nicht etwa „anti-reaktiv“. Wir haben daher Bacillenaufschwemmung und Meerschweinchenserum zwecks Komplementinaktivierung in der Regel zuvor eine Stunde im Brutschrank gehalten und erst dann das ambozeptorbeladene Blut hinzugefügt.

Wenn man nun absteigende Mengen der Bacillenaufschwemmung mit verschiedenen Dosen von Meerschweinchenserum digeriert, so ergibt sich das aus folgendem Versuchsbeispiel ersichtliche paradoxe Verhalten.

Absteigende Mengen Prodigiosusbacillen-Aufschwemmung werden mit Meerschweinchenserum digeriert, und zwar

in Reihe a mit je 0,2			ccm Meerschweinchenserum	
„	„	b „ „ 0,1	„	„
„	„	c „ „ 0,05	„	„
„	„	d „ „ 0,025	„	„
„	„	e „ „ 0,0125	„	„

Das Volumen betrug in der Reihe a 1,2 ccm, in den übrigen Reihen 1,1 ccm.

Nach 1-stündigem Aufenthalt im Brutschrank wurde überall 1 ccm ambozeptorbeladenes Hammelblut zugesetzt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

Mengen der Bacillenauf- schwem- mung ccm	Hämolyse von ambozeptorbeladenem Hammelblut durch di- gerierte Gemische von Prodigiosusbacillen-Aufschwemmung und Meerschweinchenserum; letzteres in der Menge von:				
	a 0,2 ccm	b 0,1 ccm	c 0,05 ccm	d 0,025 ccm	e 0,0125 ccm
1,0	0	0	0	Spürchen	0
0,5	0	0	Spürchen	mäßig	Spürchen
0,25	0	0	mäßig	fast komplett	Spur
0,15	0	Spürchen	stark	komplett	stark
0,1	Spürchen	komplett	komplett	"	fast komplett
0,05	komplett	"	"	"	" "
0,025	"	"	"	"	" "
0,015	"	"	"	"	" "
0,01	"	"	"	"	" "
0	"	"	"	"	" "

Aus der Tabelle ergibt sich die interessante Tatsache, daß die antikomplementäre Wirkung der Bacillenaufschwemmung um so stärker ist, d. h. mit um so geringeren Mengen gelingt, je größere Meerschweinchenserummengen vorhanden sind. Die Komplementinaktivierung ist also um so intensiver, je mehr Komplement zugesetzt wird. Für die antikomplementäre Bakterienwirkung dürfte diese Feststellung neuartig sein. Analogien sind allerdings leicht aufzufinden, wenn man sich der Verhältnisse bei der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium, durch Cobragift und auch durch Schütteln erinnert. Es ergibt sich dann ein vollständiger Parallelismus. Liest man eine der oberen Querspalten der Tabelle von links nach rechts, so zeigt sich die nämliche paradoxe Reihe, die zuerst Braun beim Einwirken von Cobragift auf Meerschweinchenserum gesehen hat, und die dann durch die Untersuchungen von Sachs und Omorokow die befriedigende Aufklärung in dem Sinne fand, daß die antikomplementäre Cobragiftwirkung der Serumkonzentration proportional ist. Auch für die Komplementinaktivierung durch Prodigiosusbacillen werden wir anzunehmen haben, daß eine erhöhte Serumkonzentration den antikomplementären Effekt erheblich verstärkt, trotz der Erhöhung der lytischen Kraft, die durch die gleichzeitig erfolgende Steigerung des Komplementgehaltes bedingt ist.

Wenn auch die Versuche nicht immer so ausgesprochen waren, wie das in Tabelle I mitgeteilte Beispiel, so verliefen sie doch im Wesen gleichartig. Man muß dabei berücksichtigen, daß ja schon ein Gleichbleiben der antikomplementären Wirkung trotz Steigerung der Meerschweinchenserummenge eigentlich zu denselben Schlußfolgerungen berechtigt und jedenfalls eine einfache direkte Wirkung auf das Komplement auszuschließen geeignet ist. Wir müssen also die hier beschriebene Form der antikomplementären Bakterienwirkung wesentlich als Ausdruck eines indirekten Einflusses auf das Meerschweinchenserum betrachten und können jedenfalls sagen, daß durch *Prodigiosus* bacillen von der Serumkonzentration abhängige Aenderungen im Meerschweinchenserum entstehen, die ihrerseits zur Komplementinaktivierung führen.

Auf die engen Beziehungen, welche hierin zu der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium, durch Cobragift und auch durch Schütteln bestehen, haben wir schon hingewiesen. Wir sind daher geneigt, in dem schließlichen Aufhören der Komplementfunktion nach Einwirkung von Bakterien das von Friedemann präzierte allgemeinere Prinzip der antikomplementären Globulinwirkung zu erblicken und dementsprechend den *Prodigiosus* bacillen die Funktion der entsprechenden Globulinveränderung zuzuschreiben. Auch Hirschfeld und Klinger (l. c.) sind von anderer Betrachtung aus zu ähnlichen Gesichtspunkten gelangt, indem nach ihrer Ansicht eine Reihe von zur Komplementinaktivierung führenden Wirkungen, darunter auch diejenige der Bakterien, an Globulinfällungen gebunden sind. Wir möchten auch für die Bakterien annehmen, daß es sich um Veränderungen von Serumbestandteilen feinsten Grades handelt, die noch nicht zur eigentlichen Fällung führen, wie das schon Sachs und Altmann für die Komplementinaktivierung im salzarmen Medium erkannt haben. Wenn wir dabei im besonderen von Globulinveränderungen sprechen, so sind wir uns wohl bewußt, daß man die veränderten Serumbestandteile chemisch wohl nicht definieren kann, jedoch dürfte es sich um physikalische Eingriffe handeln, die bei genügender Intensität zu Globulinfällungen führen.

Man muß wohl berücksichtigen, wie das übrigens auch Hirschfeld und Klinger hervorgehoben haben, daß die Bacillensuspensionen nicht nur auf die von uns demonstrierte Weise antikomplementär wirken müssen, selbst wenn sie, wie die Prodigiosusbacillen, an erster Stelle diese Fähigkeit besitzen. Man kann annehmen, daß daneben auch direkte Einwirkungen auf das Komplement, etwa im Sinne der Adsorption oder anderer Art, beteiligt sein können. Es ist daher nicht überraschend, daß man auch mit Prodigiosusbacillen Ergebnisse erhält, die nicht mehr die vollständig klare Uebersicht, wie sie in Tabelle I ersichtlich ist, gewähren. Zum Verständnis der Abweichungen sei im folgenden ein weiteres Versuchsbeispiel mitgeteilt.

Absteigende Mengen Bacillenaufschwemmung wurden mit gleichen Mengen Meerschweinchenserum digeriert, und zwar:

in Reihe a mit je 0,2 ccm Meerschweinchenserum,

„ „ b „ „ 0,1 „ „

„ „ c „ „ 0,05 „ „

„ „ d „ „ 0,025 „ „

Nach 1-stündigem Verweilen im Brutschrank erfolgte Zusatz von 1 ccm ambozeptorbeladenem Hammelblut.

Das Ergebnis zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Mengen der Bacillen- aufschwemmung	Hämolyse von ambozeptorbeladenem Hammelblut durch digerierte Gemische von Prodigiosusbacillen-Aufschwem- mung und Meerschweinchenserum; letzteres in der Menge von:			
	a 0,2 ccm	b 0,1 ccm	c 0,05 ccm	d 0,025 ccm
1,0	0	0	0	0
0,5	0	0	0	Spürchen
0,25	0	0	Spürchen	wenig
0,15	0	0	Spur	„
0,1	Spürchen	Spürchen	„	mäßig
0,05	komplett	mäßig	mäßig	„
0,025	„	komplett	fast komplett	stark
0	„	„	komplett	komplett

Die Tabelle II zeigt im oberen Teile das von uns als gesetzmäßig erkannte Verhalten, daß nämlich die anti-komplementäre Wirkung mit der Komplementmenge zunimmt. Dagegen ist aus dem unteren Teil der

Tabelle immerhin deutlich ersichtlich, daß hier das umgekehrte Verhältnis vorliegt. Die kleineren Bacillenmengen wirken in den Dosen von 0,05 und 0,025 ccm um so stärker antikomplementär, je geringer die vorhandene Meerschweinchenserummenge ist; ein Ergebnis, das man zwar zu erwarten gewohnt ist, das aber der von uns beobachteten umgekehrten Gesetzmäßigkeit nicht mehr entspricht. Man könnte daher annehmen, daß es sich in dieser Zone mit kleinen Bacillenmengen um eine direkte Einwirkung auf das Komplement handelt. Das Ergebnis würde dann als die Resultante aufzufassen sein von direkter antikomplementärer Wirkung und indirekter Komplementinaktivierung, wobei zu berücksichtigen wäre, daß die letztere eine gewisse Serumkonzentration erfordert, aber dann die erstere erheblich übertrifft. Man könnte freilich auch daran denken, daß physikalische Umhüllungserscheinungen eine Rolle spielen, und daß dementsprechend bei kleinen Bakterienmengen bereits ein geringer Serumüberschuß genügt, um die auf das Serum antikomplementär wirkende physikalische Kraft der Bakterien aufzuheben. Es dürfte dann wohl auch verständlich sein, daß gerade bei kleinen Bakterienmengen die antikomplementäre Wirkung mit dem Steigen der Serummenge abnimmt, wobei es noch immer dahingestellt bleiben könnte, ob die antikomplementäre Wirkung unter allen Bedingungen indirekt oder durch die Kombination von direkten und indirekten Einflüssen zustande kommt.

Wie dem auch sei, jedenfalls ergeben unsere Versuche die Tatsache, daß Bacillensuspensionen um so stärker antikomplementär wirken können, je mehr Komplement vorhanden, d. h. je stärker die Serumkonzentration ist. Diese indirekte Form der Komplementinaktivierung ist augenscheinlich vom physikalischen Zustande der Bacillenaufschwemmung abhängig, und dieser dürfte bei den Prodigiosusbacillen den Erfordernissen am besten entsprechen. Man darf daher nicht erwarten, das hier beschriebene Phänomen bei allen Bacillenarten wiederzufinden. Wir selbst haben es bei Staphylokokken immerhin deutlich, wenn auch durchaus nicht so prägnant und so regelmäßig angetroffen. Bei anderen Bakterienarten haben wir nur Andeutungen davon gesehen. Aber immerhin fällt es

häufig auf und spricht in dem hier erörterten Sinne, daß auch dann, wenn die antikomplementäre Wirkung mit Steigerung der Meerschweinchenserummengen nicht zunimmt, oftmals ihre Abnahme nicht derart ist, wie man es zahlenmäßig bei einfachen, direkten Beziehungen eigentlich erwarten sollte. Ob der Typus der indirekten Wirkung zum Ausdruck gelangt, dafür möchten wir wesentlich die physikalische Beschaffenheit der Bacillensuspensionen verantwortlich machen, und es ist wohl denkbar, daß in dieser Hinsicht verschiedene Stämme derselben Art mehr oder weniger differieren können und geringfügige Abweichungen in der Beschaffenheit der Nährböden bereits eine Rolle spielen.

Was nun den Wirkungsmechanismus der von uns beschriebenen Form der Komplementinaktivierung durch Bakterien anlangt, so könnte man aus dem Umstande, daß die antikomplementäre Wirkung erst bei größeren Meerschweinchenserummengen deutlich in Erscheinung tritt, die Folgerung ziehen, daß der Komplementschwund durch eine echte Komplementbindung zustande kommt, die dann durch das Zusammenwirken der Bacillen mit normalen, aber erst in größeren Serummengen zur Wirkung gelangenden ambozeptorartigen Antikörpern veranlaßt wäre. Wir glauben jedoch, dieser Auffassung nicht folgen zu sollen. Dabei legen wir weniger Wert auf die Feststellung der Tatsache, daß auch gekochte Aufschwemmungen von *Prodigiosus* bacillen im Wesen gleichartige Ergebnisse liefern; denn die Annahme von koktostabilen Bakterienrezeptoren würde bekannter Analogien nicht entbehren. Dagegen glauben wir die immerhin gezwungen erscheinende Annahme von normalen Ambozeptoren dadurch ausschließen zu können, daß es uns gelungen ist, dem Meerschweinchenserum die Inaktivierbarkeit durch *Prodigiosus* bacillen zu rauben, ohne dabei die Komplementfunktion aufzuheben. Als Mittel benutzten wir die Einwirkung von Natronlauge und Salzsäure.

Es sei zunächst erwähnt, daß auch die *Prodigiosus* bacillenaufschwemmungen durch Einwirkung von Natronlauge und Salzsäure ihre antikomplementäre Eigenschaft einbüßen, eine immerhin bemerkens-

werte Tatsache, die aber für die hier interessierende Frage nicht von ausschlaggebender Bedeutung erscheint. Weit wichtiger aber ist der Nachweis, daß auch das Meerschweinchen Serum durch Behandeln mit Alkali oder Säure die Fähigkeit verliert, durch Bacillenaufschwemmungen beeinflußt zu werden, ohne aber dabei seine Komplementfunktion einzubüßen. Folgendes Beispiel, das zahlreichen gleichsinnigen Versuchen entspricht, wenn es auch zu einem Ergebnis von besonderer Breite geführt hat, soll als Beleg dienen.

Je 0,1 ccm Meerschweinchen Serum wurden in 2 Parallelreihen mit absteigenden Mengen

- a) Normalsalzsäure,
- b) Normalnatronlauge

1 Stunde lang im Brutschrank digeriert (Volumen 0,6 ccm). Sodann wurde durch Zusatz entsprechender absteigender Mengen Normalnatronlauge bzw. Normalsalzsäure (Volumen 0,5 ccm) neutralisiert. Die Versuchsröhrchen wurden nach weiterem Zufügen von je 0,2 ccm Prodigiosusbacillen-Aufschwemmung wiederum 1 Stunde im Brutschrank belassen (Gesamt volumen 1,3 ccm). Darauf erfolgte Zusatz von ambozeptorbeladenem Blut.

Das Ergebnis der eingetretenen Hämolyse zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Mengen der $\frac{1}{100}$ Normal- lösungen ccm	Hämolyse von ambozeptorbeladenem Hammelblut durch digerierte Gemische von je 0,2 ccm Prodigiosus- bacillen-Aufschwemmung und je 0,1 ccm Meer- schweinchen Serum; letzteres zuvor behandelt mit absteigenden Mengen von:	
	a) n-HCl	b) n-NaOH
0,5	0	0
0,4	Spürchen	Spürchen
0,3	komplett	komplett
0,25	"	"
0,2	"	"
0,15	"	"
0,125	"	"
0,1	"	"
0,075	stark	"
0,0625	Spürchen	mäßig
0,05	"	Spürchen
0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, hat die Bacillenaufschwemmung an und für sich zu vollständiger Komplementinaktivierung geführt. Dagegen bleibt die antikomplementäre Wir-

kung aus gegenüber Meerschweinchenserum, das zuvor der Einwirkung von Natronlauge oder Salzsäure unterworfen war¹⁾. Es ergibt sich also das überraschende Resultat, daß Alkali- oder Säuremengen, die an und für sich zu einer Komplementinaktivierung nicht mehr ausreichen, das Meerschweinchenserum derart verändern, daß eine Beeinflussung durch die Bacillenaufschwemmung nicht mehr wahrnehmbar ist²⁾. Man muß auch hieraus, ebenso wie aus unseren Versuchen über die Steigerung der anti-komplementären Wirkung mit der Serumkonzentration, folgern, daß der Wirkungsmechanismus ein indirekter ist. Es werden eben durch Säure- bzw. Alkaliwirkung Serumbestandteile ausgeschaltet, die für die Komplementinaktivierung durch *Prodigiosus* bacillen erforderlich sind. Diese für die indirekte Form der Komplementinaktivierung notwendigen Serumqualitäten sind also wesentlich labiler als die eigentliche Komplementfunktion, und man wird sich schon deswegen vor der Annahme, daß es sich um ambozeptorartige Antikörper handelt, scheuen müssen.

Der eigenartige Einfluß von Alkali und Säure auf das komplettierende Meerschweinchenserum entspricht den älteren Erfahrungen von Sachs und Teruuchi über die Inaktivierung im salzarmen Medium. Auch diese Art der Inaktivierbarkeit kann aufgehoben werden, ohne daß die Komplementwirkung erlischt. Sachs und Teruuchi haben als geeignetes Mittel hierzu in diesem Falle zwar das Erwärmen des Serums erkannt. Uebereinstimmend aber ergibt sich, daß sowohl die Inaktivierung im salzarmen Medium, als auch die Inaktivierung durch *Prodigiosus* bacillen an labile Serumeigenschaften gebunden ist, die in dem einen Falle durch Erwärmen, im anderen Falle durch Alkali- bzw. Säureeinwirkung beseitigt werden. Glaubten Sachs und Teruuchi ursprünglich diese

1) Das Ausbleiben der Hämolyse in den beiden obersten Gliedern der beiden Reihen ist auf eine Zerstörung des Komplements durch Alkali- bzw. Säurewirkung zurückzuführen.

2) Wesensgleiche Ergebnisse haben wir bei entsprechenden Versuchen mit *Staphylokokken* erhalten.

labilen Serumeigenschaften als an fermentative Stoffe gebunden auffassen zu sollen, so erblickten Sachs und Altmann, wie schon erwähnt, das Wesen der an labile Serumeigenschaften gebundenen Wirkungen in einer geeigneten Globulinveränderung. So entspricht also auch in dieser Auffassung des kausalen Zusammenhanges die Komplementinaktivierung im salzarmen Medium der von uns beschriebenen Form der anti-komplementären Bakterienwirkung. In beiden Fällen ist die Beschaffenheit des Serums von wesentlichem Einfluß auf die Inaktivierbarkeit des Komplements. Man könnte also versucht sein, von einer „Deviabilität“ des Komplements zu sprechen, wenn man die beobachteten Erscheinungen im Zusammenhang mit entsprechenden Erfahrungen bei der spezifischen Komplementbindung und der Wassermannschen Reaktion betrachtet.

Uebrigens haben Untersuchungen von Herrn Dr. Nathan¹⁾, über die in der folgenden Arbeit ausführlich berichtet wird, ergeben, daß auch für die Inaktivierung im salzarmen Medium und ebenso für die in die gleiche Klasse von Vorgängen gehörige Cobragiftinaktivierung ganz ähnliche Verhältnisse gelten, wobei allerdings die Aufhebung der Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenserums — der „Deviabilität“, wenn man so sagen will — durch Salzsäureeinwirkung markanter zu gelingen scheint, als bei Einwirkung von Natronlauge. Da nun bei allen hierhergehörigen Formen der Komplementinaktivierung das seiner Funktion beraubte Meerschweinchenserum durch Zusatz des durch angemessene Hitzeeinwirkung inaktivierten Meerschweinchenserums, der sogenannten „3. Komponente“, in seiner Wirkung wieder restituiert wird, kann man, wie schon Nathan ausgeführt hat, von Einflüssen auf das Serum sprechen, die eine „Resistenz“ der 3. Komponente gegenüber den ihre Funktion aufhebenden Einflüssen zur Folge haben.

Offenbar ist also die Inaktivierbarkeit derjenigen Serumqualität, die wir zunächst einer 3. Komponente zugeschrieben haben, an die Alterierbarkeit besonders labiler Serumbestandteile gebunden. Die Inaktivierung bleibt dabei aus, wenn die letzteren durch thermische oder chemische Ein-

1) Vgl. E. Nathan, diese Zeitschr., Bd. 21, 1914, p. 275 — woselbst diese Befunde bereits kurz erwähnt sind.

griffe (Säure, Alkali) so verändert werden, daß sie geeigneter physikalischer Beeinflussung nicht mehr zugänglich sind. Wir befinden uns in Uebereinstimmung mit den Anschauungen, zu denen auch Friedemann, P. Schmidt, Hirschfeld und Klinger gelangt sind, wenn wir das labile Prinzip als die Fähigkeit von Serumstoffen (Globulinen) zu geeigneter Dispersitätsveränderung definieren. Die indirekte Form der antikomplementären Bakterienwirkung, wie wir sie insbesondere für die *Prodigiosus*-bacillen feststellen konnten, erklärt sich daher durch eine primäre Einwirkung auf die Serumglobuline, die von der Konzentration weitgehend abhängig ist, und die erst sekundär die antikomplementäre Wirkung der alterierten Globuline zur Folge hat. Der Vorgang entspricht demnach in seinem Wesen der Inaktivierung des Komplements im salzarmen Medium.

Es dürfte nicht ohne Interesse sein, die Bedeutung der von uns erhobenen Befunde für die Methodik der Komplementbindungsreaktionen kurz zu erörtern. Das Verhalten der *Prodigiosus*-bacillen-Aufschwemmungen zeigt ja, daß es für Komplementbindungsversuche in Betracht kommende Stoffe gibt, die unter Umständen bei einer Erhöhung des Komplementgehaltes stärker antikomplementär wirken. Man wird also nicht immer ohne weiteres erwarten dürfen, daß eine störende antikomplementäre Wirkung der als Träger von Antigen und Antikörper bei der Komplementbindung benutzten Komponenten durch eine einfache Steigerung der Komplementmenge aufgehoben oder vermindert wird. Es kann dabei sogar, wie wir gezeigt haben, das Gegenteil eintreten. Insbesondere wird man daher beim Arbeiten mit bakteriellen Antigenen in neu zu erprobenden Kombinationen den Einfluß der Serumkonzentration auf die antikomplementäre Wirkung (Eigenhemmung) erst prüfen müssen. Zwar wird man derart reinen Formen der indirekten antikomplementären Wirkung, wie wir sie für *Prodigiosus*-bacillen feststellen konnten, wohl nicht allzu häufig begegnen. Aber immerhin dürfte eine Kombination des indirekten Wirkungsmechanismus mit anderen Arten der antikomplementären Wirkung nicht ganz selten vorhanden sein.

Wir haben auch bei der Prüfung der zur Wassermannschen Reaktion dienenden Extrakte auf Eigenhemmung Andeutungen in diesem Sinne gesehen. Allerdings kommen gerade bei der Eigenhemmung der Extrakte für die Wassermannsche Reaktion, wie übrigens auch bei anderen antikomplementären Vorgängen, noch andere Momente in Betracht. So wird, wie schon Schloßberger¹⁾ im hiesigen Institut gezeigt hat, die antikomplementäre Extraktwirkung durch Steigerung der Meerschweinchenserummengabe abgeschwächt, wobei aber nicht die Vermehrung des Komplementgehaltes das Maßgebende ist, da auch Steigerung der Meerschweinchenserummengabe durch Zusatz von inaktiviertem Meerschweinchenserum zu dem gleichen Ergebnis führt²⁾. Man kann also im allgemeinen nur auf ein Ergebnis rechnen, das die Resultante verschieden gerichteter Vorgänge darstellt, und bei gewissen Extrakten glauben wir unter bestimmten Bedingungen ein Ueberwiegen der Verstärkung der antikomplementären Wirkung durch Steigerung der Meerschweinchenserummengabe beobachtet zu haben.

Allerdings hat Blumenthal³⁾ bereits geglaubt, eine stärkere antikomplementäre Extraktwirkung durch Vermehrung der Komplement- bzw. Serummengabe nachweisen zu können. Indes hat schon Schloßberger (l. c.) darauf hingewiesen, daß die mitgeteilten Beobachtungen, wie das auch Blumenthal in Erwägung zog, sich durch die starke hämolytische Wirkung der von ihm benutzten Extrakte erklären. Eine stärkere antikomplementäre Wirkung bei größerem Komplementgehalt kann hierdurch vorgetäuscht werden, da die geringeren Komplementmengen nicht zur Aufhebung der hämolytischen Extraktwirkung ausreichen.

Wir möchten diese Arbeit nicht schließen, ohne wenigstens kurz auf dasjenige Problem hinzuweisen, das den Ausgangspunkt für unsere Versuche bildete, nämlich die Frage der Entstehung des Anaphylatoxins⁴⁾. Wir haben im

1) H. Schloßberger, diese Zeitschr., Bd. 19, 1913, p. 115.

2) Es handelt sich hierbei wohl um Vorgänge nach Art der „Umhüllungserscheinungen“. So werden ja die biologischen Wirkungen der Lipide im allgemeinen durch Serumeiweiß gehemmt.

3) Fr. Blumenthal, diese Zeitschr., Bd. 16, 1913, p. 347.

4) H. Ritz und H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 22; Centralbl. f. Bakt., Referate, Bd. 50, 1911, Beiheft, p. 43.

Jahre 1911 eine physikalische Theorie der Anaphylatoxinbildung aufgestellt, nach der das Anaphylatoxin nicht, wie das an erster Stelle Friedberger vertreten hat, das Produkt eines Abbaus des Antigens durch Ambozeptor-Komplementwirkung ist, vielmehr lediglich einem physikalischen Einfluß auf das Meerschweinchenserum, der von Bakteriensuspensionen, Präzipitaten oder anderen geeigneten Agentien ausgeübt wird, seine Entstehung verdankt. Konnte sich zunächst die Beweisführung für diese Auffassung nur auf mehr oder weniger schwer wiegendes Material, wenn auch nicht auf ganz eindeutige Tatsachen stützen, so ist es in der Zwischenzeit Sachs und Nathan¹⁾ im Anschluß an die Versuche Bordets über die Anaphylatoxinbildung durch Agar gelungen, die von uns begründete physikalische Theorie in vollkommen eindeutiger Weise experimentell zu begründen.

Insbesondere stellen die Versuche über Anaphylatoxinbildung durch Stärke und Inulin ein Experimentum crucis für die Richtigkeit der physikalischen Theorie dar, indem sie zeigen, daß die Umwandlung des Meerschweinchensersums zum Anaphylatoxin lediglich vom physikalischen Zustande der betreffenden Polysaccharide abhängt. Daß Eiweißbeimengungen eine Rolle bei der Anaphylatoxinbildung nicht spielen, hatte sich schon aus den Versuchen Nathans über die Anaphylatoxinbildung durch Stärke mit großer Wahrscheinlichkeit ergeben. Selbst dann, wenn man den geringen Stickstoffgehalt des benutzten Stärkepräparates in unwahrscheinlicher Willkür nur auf Eiweiß bezog, kam die außerordentlich minimale Menge von 0,0000001 g Eiweiß für die Anaphylatoxinbildung in Betracht.

Diese Versuche sind zu unserer Freude vor kurzem von P. Schmidt²⁾ in seinen interessanten Studien über die Entstehung des anaphylaktischen Anfalls vollinhaltlich bestätigt worden. Schmidt hat dabei auch ein eiweißfreies Stärkepräparat hergestellt und damit dieselben Ergebnisse erzielt.

1) H. Sachs und E. Nathan, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25; E. Nathan, diese Zeitschr., Bd. 17, 1913, p. 478, u. Bd. 18, p. 636; Bd. 23, 1914, p. 204.

2) P. Schmidt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 83, 1916, p. 89.

Selbst wenn man den noch nachgewiesenen minimalen Stickstoffgehalt, der nach Schmidt und Möser¹⁾ aus den zur Darstellung verwendeten Reagentien und der Laboratoriumsluft herrührt, berücksichtigen wollte, so war derselbe so gering, daß er bei alleiniger Umrechnung auf Stickstoffsubstanz einem Eiweißgehalt von 0,05 Proz. entsprach. Es würde dann — wenigstens in 2 der von Schmidt mitgeteilten Versuche — die überhaupt für die Anaphylatoxinbildung in Frage kommende Stickstoffsubstanzmenge sogar nur 0,000000025 bzw. 0,00000001 g betragen (gegenüber 0,0000001 g in den Versuchen Nathans). Eine Beteiligung von Eiweißantigenen kann man jedenfalls bei den geringen Stärkemengen, die zur Giftherstellung ausreichen, nicht mehr annehmen. Daß in der Tat die Kohlehydrate als solche hier allein für die Giftbildung verantwortlich sind, ergibt sich bereits aus den Feststellungen Bordets²⁾, daß die Stärke durch amylolytische Wirkung ihr Anaphylatoxinbildungsvermögen einbüßt, sowie ganz besonders aus der von Sachs und Nathan einwandfrei erwiesenen Tatsache, daß der physikalische Zustand, in dem sich die Polysaccharide, vor allem das Inulin, befinden, das Maßgebende ist.

Jedenfalls ruht unsere physikalische Theorie der Anaphylatoxinbildung heute auf festen experimentellen Stützen, und wir haben schon in unserer ersten Arbeit auf die Möglichkeit hingewiesen, daß bei manchen Agentien eine störende Interferenz durch eine Absorption des Anaphylatoxins möglich ist. So haben wir gezeigt, daß lebende Metschnikoff-Vibrionen im Gegensatz zu gekochten, ebenso auch das Kaolin — wie entsprechend ähnlichen Versuchen von Friedberger und Jerusalem³⁾ in einem gewissen Grade die Knochenkohle — imstande sind, Anaphylatoxin zu entgiften, und es dürfte in Uebereinstimmung hiermit stehen, daß Schmidt das Anaphylatoxin neuerdings mittels Filtration durch Berkefeld-Filter entfernen konnte.

1) L. Möser, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 83, 1916, p. 113.

2) J. Bordet, Internationaler Medizin. Kongreß, London 1913; vgl. auch diese Zeitschr., Bd. 23, 1914, p. 42.

3) E. Friedberger und E. Jerusalem, diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, p. 748.

Unsere physikalische Theorie bezieht sich hauptsächlich auf die Entstehung des Anaphylatoxins, d. h. auf den auslösenden Anlaß, durch den das Serum in ein toxisches Agens umgewandelt wird. Sie enthält außerdem die Auffassung, daß das giftige Prinzip aus dem Meerschweinchenserum herrührt. Das zur Giftbildung führende Agens hat die Funktion, das Serum physikalisch aufzuschließen und es in das Anaphylatoxin umzuwandeln (Sachs). Schmidt sieht neuerdings den Grund der Giftigkeit in der unmittelbaren und weiter adsorbierenden Wirkung der vergrößerten Globulinteilchen, bzw. der von ihnen überzogenen, zur Anaphylatoxinbildung dienenden nicht zentrifugablen Agentien. Wir möchten vorläufig die Ursachen der eigentlichen Giftwirkung dahingestellt sein lassen (vgl. unsere früheren Arbeiten) und nur erwähnen, daß wir allerdings als erste Phase der Anaphylatoxinbildung — ähnlich wie Bordet, Hirschfeld und Klinger — eine Veränderung der Globuline vermuten ¹⁾.

Gerade von diesem Gesichtspunkte aus sind unsere in dieser Arbeit mitgeteilten Versuche über antikomplementäre Bakterienwirkung entstanden. Die Tatsache der Restituierbarkeit der Komplementfunktion und der Abhängigkeit der Komplementinaktivierung von der Serumkonzentration hatte uns veranlaßt, darauf hinzuweisen, daß man einen Komplementverbrauch bei der Anaphylatoxinentstehung nicht ohne weiteres mit Komplementwirkung identifizieren darf. Wir möchten daher in diesem Zusammenhange auch auf einige ältere, wegen ihrer geringen Zahl nicht veröffentlichte Versuche hinweisen, die uns gezeigt haben, daß man Meerschweinchenserum durch kurzes Erhitzen die Fähigkeit zur Anaphylatoxinbildung nehmen kann, ohne daß die hämolytische Komplementfunktion wesentlich leidet.

Unsere damaligen Versuche, die wir allerdings nur als vorläufige betrachten können, waren mit Cobragift als Anaphylatoxinbildner angestellt. Friedberger ²⁾ hatte ja ge-

1) Vgl. hierzu außer den bereits erwähnten Arbeiten: H. Sachs, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 39; Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 52.

2) E. Friedberger und T. Kumagai, Berl. Mikrobiol. Ges., Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 21; diese Zeitschr., Bd. 17, 1913, p. 531.

zeigt, daß man durch Zusammenwirken von Cobragift und Meerschweinchenserum Anaphylatoxin herstellen kann. Wir konnten die Tatsache bestätigen¹⁾, glauben aber folgern zu sollen, daß nicht die im Cobragift vorhandenen Toxine, sondern die sonstige Beschaffenheit des Cobragiftes, die eben — direkt oder indirekt — zur geeigneten physikalischen Zustandsänderung führt, die Ursache der Anaphylatoxinbildung ist. In dieser Hinsicht war es von Interesse, daß das Meerschweinchenserum in einigen Versuchen durch kurzes, nicht zum Inaktivieren der Komplementfunktion ausreichendes Erhitzen die Fähigkeit zur Anaphylatoxinumwandlung durch Cobragift verlor. Wir möchten einen derartigen Befund, der sich freilich bisher nur in wenigen Versuchen ergab, in dem Sinne deuten, daß durch den kurzen thermischen Eingriff dem Meerschweinchenserum die Fähigkeit zur Anaphylatoxinumwandlung ebenso entzogen wird, wie diejenige zur Inaktivierbarkeit durch *Prodigiosus* bacillen durch Alkali oder Säure. Die Ursache dürfte auch hierbei in einer Erschwerung der Beeinflussbarkeit der Globuline gelegen sein, und so kann man in dem Verhalten der *Prodigiosus* bacillen und des Cobragiftes einerseits in bezug auf die Anaphylatoxinbildung, andererseits in bezug auf die Inaktivierung des Komplements ein gemeinsames Band erblicken, nämlich die Eignung zur Erzeugung entsprechender physikalischer Serumveränderungen.

Zusammenfassung.

1) Aufschwemmungen von *Prodigiosus* bacillen wirken in der Wärme, dagegen nicht oder nur in erheblich geringerem Maße in der Kälte (0°) antikomplementär.

2) Die antikomplementäre Wirkung der *Prodigiosus* bacillen bedarf einer gewissen Zeit des Zusammenwirkens mit dem Meerschweinchenserum, um in Erscheinung zu treten.

3) *Prodigiosus* bacillen wirken innerhalb ziemlich weiter Grenzen um so stärker antikomplementär, je größere Meerschweinchenserummengen vorhanden sind.

1) Vgl. Handbuch der pathog. Mikroorganismen, 2. Aufl., Bd. 2, 1913, p. 1436.

4) Die antikomplementäre Wirkung der Prodigiosusbacillen kann durch Einwirkung von Alkali und Säure beseitigt werden.

5) Die Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenserums durch Prodigiosusbacillen (die „Deviabilität“) wird durch Einwirkung von Alkali und Säure auf das Meerschweinchenserum aufgehoben.

6) Die Inaktivierung des Meerschweinchenserums durch Prodigiosusbacillen kommt daher, ebenso wie diejenige im salzarmen Medium und durch Cobragift auf indirekte Weise zustande. Der maßgebende Vorgang wird in einer Globulinveränderung erblickt, die an einen durch Labilität charakterisierten Zustand des Serums gebunden ist.

7) Wenn auch bei den benutzten Prodigiosusbacillen die optimalen Bedingungen für das Zustandekommen der indirekten Komplementinaktivierung vorhanden zu sein scheinen, so dürfte die letztere doch auch bei anderen Bacillenaufschwemmungen oder anderen Formen der antikomplementären Wirkung mehr oder weniger in Betracht zu ziehen sein. Es wird daher auf die sich ergebenden Folgerungen für die Methodik der Komplementbindungsreaktionen hingewiesen.

8) Da bei denjenigen Arten der Komplementinaktivierung, die dem indirekten Wirkungsmechanismus folgen, eine Restitution der Wirkung durch Meerschweinchenserum, das durch geeignetes Erhitzen inaktiviert ist, die sogenannte „3. Komponente“, erfolgt, muß man annehmen, daß der Verlust der als 3. Komponente bezeichneten Serumfunktion an die Veränderlichkeit von Globulinbestandteilen des Serums gebunden ist, daß aber diese Veränderlichkeit durch thermischen (oder chemischen) Einfluß aufgehoben werden kann.

9) Es wird auf die Beziehungen der indirekten Form der antikomplementären Wirkung zu der physikalischen „Giftung“ des Meerschweinchenserums, wie sie nach der von den Verfassern begründeten Theorie bei der Anaphylatoxinbildung vorliegt, hingewiesen. Das Gemeinschaftliche bei beiden Vorgängen dürfte in der physikalischen Veränderung der Globuline zu erblicken sein, die dann einerseits Komplementschwund, andererseits Anaphylatoxinbildung zur Folge hat. Es handelt sich gewissermaßen um eine physikalische Aufschließung des aktiven Serums.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirklicher Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Beiträge zur Kenntnis der Inaktivierbarkeit des Meer-schweinchenkomplements und ihrer Abhängigkeit von der Serumbeschaffenheit.

Von Dr. med. **Ernst Nathan**,
früherem Assistenten des Instituts,
jetzigem Assistenten der Dermatolog. Universitätsklinik in Frankfurt a. M.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. März 1917.)

Durch eine Reihe von Arbeiten aus dem hiesigen Institut ist gezeigt worden, daß zahlreiche Formen der antikomplementären Wirkung nicht als Folge direkter Reaktion zwischen dem antikomplementären Agens und dem Komplement aufzufassen sind, daß es sich vielmehr dabei um indirekte Wirkungen handelt, so zwar, daß die Komplementinaktivierung erst die Folge der Beeinflussung anderer Serumbestandteile ist. Allerdings hatten Sachs und Teruuchi¹⁾ für die Inaktivierung im salzfreien Medium, die das zuerst erkannte Beispiel einer derartigen indirekt vermittelten Inaktivierung darstellt, ursprünglich eine fermentative Wirkung im Meer-schweinchen-serum angenommen, die nur unter geeigneten Bedingungen ihre Wirksamkeit entfaltet. Doch ergab sich bereits aus den Untersuchungen von Sachs und Altmann²⁾, die sich an diejenigen von Tsuda³⁾ anschlossen, mit Sicherheit, daß es hinreichte, in der Beschaffenheit der Serumglobuline und deren Zustandsänderungen die Ursache für die Inaktivierbarkeit des Komplements im salzfreien

1) H. Sachs und Y. Teruuchi, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 16, 17 und 19.

2) H. Sachs und K. Altmann, Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, Berlin 1908; Handb. der pathog. Mikroorganismen, 1. Aufl., 2. Erg.-Bd., 1909, p. 543; Biochem. Zeitschr., Bd. 78, 1916, p. 46.

3) K. Tsuda, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 8.

Medium zu suchen. Jedenfalls war durch die erwähnten Untersuchungen von Sachs und Teruuchi zum erstenmal gezeigt worden, daß es Arten der Komplementinaktivierung gibt, bei denen der Vorgang ein komplexer ist, so daß Sachs und Altmann schon im Jahre 1908 aus ihren Versuchen den Schluß ziehen konnten, daß die eigentliche Inaktivierung des Komplements gewissermaßen eine Funktion des Zustands der Serumglobuline darstellt und sekundär deren geeigneter Alteration folgt.

Diese Anschauungen erfuhren dann durch die Untersuchungen von Friedemann¹⁾ über die antikomplementäre Wirkung der Globuline im allgemeinen eine Erweiterung und Vertiefung insofern, als eben die Fähigkeit der Serumglobuline überhaupt, im Sinne einer Inaktivierung des Komplements zu wirken, als eine für zahlreiche Serumwirkungen gültige, allgemeine Gesetzmäßigkeit erkannt wurde.

Die Arbeiten von Sachs und seinen Mitarbeitern sind nun für das Verständnis der verschiedenen Inaktivierungsformen dadurch von Bedeutung geworden, daß sie die Aufmerksamkeit auf Gesetzmäßigkeiten lenkten, welche für eine Reihe von antikomplementären Wirkungen in gleicher Weise gemeinsame Gültigkeit besitzen, und die durch ihr zunächst paradox erscheinendes Wesen überraschen mußten. Vor allem war es die Abhängigkeit der Inaktivierung des Meerschweinchenkomplements von der Serumkonzentration, die, zuerst bei der Inaktivierung des Komplements im salzfreien Medium von Sachs und Teruuchi nachgewiesen, sich auch für die Cobragiftinaktivierung des Komplements [Sachs und Omorokow²⁾], sowie für die Komplementinaktivierung durch gewisse Bakterien [Sachs und Ritz³⁾] als gültig erwies. Diese Verhältnisse legten den Gedanken nahe, daß es sich bei der Inaktivierung durch Bakterien (wenigstens durch *Prodigiosus bacillen*) und Cobragift um ihrem Wesen nach gleichartige Phänomene handelte.

1) U. Friedemann, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 67, 1910, p. 279.

2) L. Omorokow, *diese Zeitschr.*, Bd. 10, 1911, p. 285; H. Sachs und L. Omorokow, *ebenda*, Bd. 11, 1911, p. 710.

3) H. Sachs und H. Ritz, *Centralbl. f. Bakt., Ref.*, Bd. 50, 1911, Beiheft.

Für diese Anschauung sprachen noch einige weitere Beobachtungen, die vor allem die Restituierbarkeit des durch die erwähnten Einflüsse inaktivierten Komplements betrafen. Ritz¹⁾, sowie Sachs und Ritz²⁾ konnten nämlich zeigen, daß das durch Cobragift oder Bakterien inaktivierte Meerschweinchenserum durch Zusatz thermoinaktivierten Serums in seiner Wirkung quantitativ sich restituieren ließ, wofür Sachs und Ritz eine im thermoinaktiven Serum vorhandene „dritte Komponente“ des Komplements verantwortlich machten.

In den Arbeiten aus dem hiesigen Laboratorium ist daher wiederholt die Anschauung vertreten worden, daß es sich bei diesen Formen der Komplementinaktivierung, die einerseits von der Serumkonzentration abhängig sind, andererseits nur die sogenannte „dritte Komponente“ betreffen, letzten Endes um das allgemeine Prinzip der antikomplementären Globulinwirkung handeln könnte. Mit dieser Anschauung begegnen sich in der Zwischenzeit erschienene Arbeiten von P. Schmidt und Liebers³⁾, sowie von Hirschfeld und Klinger⁴⁾, denen die Auffassung gemeinsam ist, daß es sich bei den verschiedenen Formen der Komplementinaktivierung um Zustandsänderungen der Serumkolloide, insbesondere der Serumglobuline handelt. In der Tat entstehen, wie die genannten Autoren gezeigt haben, bei Einwirkung der antikomplementären Agentien auf das Meerschweinchenserum Trübungen ebenso wie bei der Inaktivierung im salzarmen Medium. Sachs und Altmann hatten bereits darauf hingewiesen, daß die Inaktivierung im salzarmen Medium an einen bestimmten Trübungsgrad gebunden ist, d. h. an eine Globulinveränderung, die noch nicht zur Ausflockung führt. Gerade diese feine Zustandsänderung der Globuline scheint nach Sachs, wie auch nach P. Schmidt und Liebers, Hirschfeld und

1) H. Ritz, diese Zeitschr., Bd. 13, 1912, p. 62.

2) H. Sachs und H. Ritz, l. c.

3) P. Schmidt und M. Liebers, diese Zeitschr., Bd. 19, 1913, p. 373; Bd. 22, 1914, p. 220.

4) L. Hirschfeld und R. Klinger, diese Zeitschr., Bd. 21, 1914, p. 40; Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25; Biochem. Zeitschr., Bd. 70, 1915, p. 398.

Klinger das Maßgebende für die Komplementinaktivierung wie auch für eine Reihe anderer Serumreaktionen zu sein [vgl. hierzu auch Sachs¹⁾].

Die Versuche, über die ich mir in folgendem zu berichten erlaube, schlossen sich unmittelbar den seit vielen Jahren im Gange befindlichen Arbeiten des Laboratoriums an. Zugleich mit der Erkenntnis, daß es sich bei der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium um einen indirekten Wirkungsmechanismus handelt, konnten Sachs und Teruuchi nachweisen, daß diejenigen Komponenten im Meerschweinchen-serum, welche die Vermittlerrolle bei dem Vorgange der Komplementinaktivierung spielen, durch kurz bemessene thermische Einflüsse ihrer Funktion beraubt werden können, ohne daß die Komplementfunktion erlischt. Für eine wesentliche Gleichartigkeit der Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenkomplements durch *Prodigiosus* bacillen spricht nun die von Sachs und Ritz festgestellte Tatsache, daß auch in dieser Hinsicht, wenn man so sagen will, die „Deviabilität“ des Meerschweinchen-serums aufgehoben werden kann. Es gelang Sachs und Ritz in der Tat, durch Einwirkung von Salzsäure und Natronlauge auf das Meerschweinchen-serum das letztere so zu verändern, daß sein Komplementgehalt durch *Prodigiosus* bacillen nicht mehr inaktivierbar war. Bei dieser Sachlage mußte es natürlich von Interesse erscheinen, auch bei den anderen hierher gehörenden Formen der Komplementinaktivierung, der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium und durch Cobragift, den Einfluß gleichartiger Eingriffe auf die Inaktivierbarkeit zu untersuchen, und meine Untersuchungen galten daher zunächst der experimentellen Analyse dieser Frage.

Dann aber mußte es im engsten Zusammenhang damit interessieren, wie sich die Teilkomponente des Komplements, die im thermoinaktiven Meerschweinchen-serum als sogenannte „dritte Komponente“ nachweisbar ist, den gleichen komplementinaktivierenden Eingriffen gegenüber verhält. Man muß sich ja vorstellen, daß bei denjenigen Formen der Komplementinaktivierung, die auf den Verlust der „dritten Kom-

1) H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 52.

ponente“ zurückgeführt werden, auch die Inaktivierung der „dritten Komponente“ nicht direkt erfolgt, sondern eben indirekt durch andere Serumbestandteile (Globuline) vermittelt wird. Da nun die letzteren durch das Inaktivieren ihre Veränderlichkeit im Sinne von Trübungen und Fällungen, also im Sinne einer Vergrößerung der Dispersität, wie schon von der Klausnerschen Reaktion her bekannt ist, einbüßen, so ist anzunehmen, daß in dem inaktivierten Meerschweinchenserum die dritte Komponente den auf sie wirkenden destruktiven Einflüssen entzogen ist, und ich habe in diesem Sinne schon in einer früheren Arbeit von einer „Resistenz“ der dritten Komponente im inaktivierten Meerschweinchenserum gesprochen [E. Nathan¹⁾].

Meine Untersuchungen gliedern sich daher wesentlich in zwei Teile, von denen der eine die Aufhebung der Inaktivierbarkeit des Komplements, der andere das Verhalten der dritten Komponente im inaktivierten Serum gegenüber den entsprechenden antikomplementären Wirkungen betrifft. Anhangsweise soll dann noch kurz über einige vorläufige Versuche über die antikomplementäre Wirkung von Präzipitaten berichtet werden, die sich, wie es scheint, in wesentlichen Punkten von den übrigen hier behandelten Formen der Komplementinaktivierung unterscheiden können.

Was die Methodik anbelangt, so wurde folgendermaßen verfahren:

Als Blutkörperchen diente Hammelblut in 7–8-proz. serumfreier Suspension, als Ambozeptor vom Kaninchen durch Immunisierung mit Hammelblut gewonnene Immunsera, die in 10-fach lösender Dosis verwandt wurden.

Als „dritte Komponente“ diente Meerschweinchenserum, das $\frac{1}{4}$ Stunde auf 54°, oder Schweineserum, das $\frac{1}{2}$ Stunde auf 55° erhitzt worden war.

Die Herstellung des als Reagens auf die „dritte Komponente“ dienenden Cobrameerschweinchenserums geschah derart, daß ein Teil Meerschweinchenserum mit 0,4 Teilen $\frac{1}{6}$ -proz. Cobragiftlösung $1\frac{1}{4}$ Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert und sodann mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 Teile aufgefüllt wurde. Es entsprach also das derart erhaltene „Cobraserum“ halbfach verdünntem nativem Meerschweinchenserum.

Die zur Inaktivierung des Komplements bei einem Teil der Versuche benutzten Bakterienaufschwemmungen wurden derart hergestellt, daß 24-stündige Schrägagarkulturen von *Bacillus prodigiosus* bzw. von *Staphylo-*

1) E. Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 259

coccus aureus nach mehrfachem Waschen in je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung zu einer gleichmäßigen Suspension aufgeschwemmt wurden.

Im übrigen sind die Einzelheiten der Versuchsanordnung aus den Versuchsprotokollen zu ersehen.

Die Beurteilung der eingetretenen Hämolyse erfolgte nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank. Der Grad der Hämolyse ist in den Tabellen folgendermaßen notiert: k = komplette, fk = fast komplette, st = starke, m = mäßige, w = wenig, Sp = Spur, Spch = Spürchen, 0 = keine Hämolyse.

I. Ueber die Aufhebung der Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenserums.

Zu den Versuchen über die Aufhebung der Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenserums benutzte ich nach dem Vorgang von Sachs und Ritz Salzsäure und Natronlauge¹⁾. Ich konnte dabei die Ergebnisse der genannten Autoren mit *Prodigiosus* bacillen vollkommen bestätigen.

In gleicher Weise prüfte ich nun den Einfluß der Salzsäure und Natronlauge auch auf die Inaktivierbarkeit des Komplements im salzarmen Medium und durch Cobragift. Die Verhältnisse unterschieden sich dabei insofern von der antikomplementären Bakterienwirkung, daß ein gleichsinniger Einfluß der Natronlauge bei der Inaktivierung im salzarmen Medium und durch Cobragift nicht oder nur in wenig ausgesprochener Form nachweisbar war. Dagegen entsprachen die Versuche mit Salzsäure durchaus den Erwartungen. Ich lasse zunächst ein Versuchsbeispiel, das die Komplementinaktivierung im salzarmen Medium betrifft, folgen.

Je 0,5 ccm frisches Meerschweinchenserum werden in zwei parallel angesetzten Versuchshälften I und II mit

- 1) je 0,25 ccm $\frac{1}{20}$ Normal-HCl,
- 2) „ 0,25 „ $\frac{1}{30}$ „ „
- 3) „ 0,25 „ $\frac{1}{60}$ „ „
- 4) „ 0,25 „ $\frac{1}{100}$ „ „
- 5) „ 0,25 „ physiologischer NaCl

$\frac{1}{2}$ Stunde im Brutschrank digeriert.

Sodann werden die Gemische mit den entsprechenden Mengen NaOH (Volumen 0,25 ccm) neutralisiert.

1) Unabhängig von Hirschfeld und Klinger habe auch ich festgestellt, daß die Inaktivierung durch Cobragift und *Prodigiosus* bacillen durch Hypertonie des Mediums gehemmt wird (vgl. hierzu auch Friedemann).

Nach dieser Vorbehandlung der Meerschweinchenserum erfolgt bei den Röhrchen

der Versuchshälfte I Zusatz von je 3,6 ccm Aqua destillata,

„ „ II „ „ „ 3,6 „ physiolog. NaCl-Lösung.

Nach $1\frac{1}{4}$ -ständiger Digestion im Brutschrank bei 37° werden die Röhrchen der Versuchshälfte I durch Zusatz von 0,4 ccm 10-proz. NaCl-Lösung isotonisch gemacht, die schon isotonischen Röhrchen der Versuchshälfte II mit 0,4 ccm physiologischer NaCl-Lösung aufgefüllt.

Hierauf wird der Komplementgehalt der so erhaltenen 10-fachen Meerschweinchenserum-Verdünnungen unter Verwendung von 1,0 ccm Hammelblut und 0,1 ccm Ambozeptorverdünnung ausstitriert.

Das Ergebnis nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt Tabelle I.

Tabelle I.
Versuchshälfte I.

Mengen des Meer- schweinchen- serums ccm	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunserum und absteigende Mengen Meerschweinchenserum, letzteres digeriert mit destilliertem Wasser nach Vorbehandlung mit				
	Normalsalzsäure in den Mengen				NaCl
	1. $\frac{1}{20}$ 0,25	2. $\frac{1}{30}$ 0,25	3. $\frac{1}{50}$ 0,25	4. $\frac{1}{100}$ 0,25	5. 0,25
0,1	k	k	m	0	0
0,05	m	w	Spch	0	0
0,025	0	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0

Versuchshälfte II.

Mengen des Meer- schweinchen- serums ccm	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunserum und absteigende Mengen Meerschweinchenserum, letzteres digeriert mit physiol. Kochsalzlösung nach Vorbehandlung mit				
	Normalsalzsäure in den Mengen				NaCl
	1. $\frac{1}{20}$ 0,25	2. $\frac{1}{30}$ 0,25	3. $\frac{1}{50}$ 0,25	4. $\frac{1}{100}$ 0,25	5. 0,25
0,1	k	k	k	k	k
0,05	k	k	k	k	k
0,025	Sp	w	k	k	k
0,015	0	Spch	m	m	m
0,01	0	0	w	w	w
0	0	0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, wird zwar auch das mit Salzsäure vorbehandelte Meerschweinchenserum durch das Verdünnen

im salzarmen Medium in seiner Komplementfunktion etwas abgeschwächt; die Abschwächung ist aber nicht entfernt mit derjenigen vergleichbar, die das native Meerschweinchenserum im salzarmen Medium erleidet. Durchaus charakteristisch ist aber das zuerst paradox erscheinende Resultat, daß die Komplementwirkung des Meerschweinchensersums mit dem Grade der Säuerung eine Abschwächung erfährt, die Reihenfolge der hämolytischen Wirkung aber bei den danach mit Wasser behandelten Serumproben sich gerade entgegengesetzt verhält. Wir haben also hier durch Salzsäureeinwirkung genau dasselbe erreicht, was Sachs und Teruuchi durch kurzdauerndes Erhitzen des Serums erzielen konnten. Die Hydrolabilität des Meerschweinchensersums wird durch vorangehende Salzsäureeinwirkung erheblich vermindert, das Komplement scheint der inaktivierenden Wasserwirkung gegenüber resistent geworden zu sein.

Wesensgleich waren die Versuche über den Einfluß der Salzsäure auf die Inaktivierbarkeit des Meerschweinchensersums durch Cobragift, wie es das folgende Versuchsbeispiel zeigt:

Je 0,5 ccm frisches Meerschweinchenserum werden in zwei parallel angesetzten Versuchshälften I und II 1 Stunde im Brutschrank digeriert mit

- 1) je 0,25 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-HCl-Lösung
- 2) „ 0,25 „ $\frac{1}{12}$ „ „ „
- 3) „ 0,25 „ $\frac{1}{14}$ „ „ „
- 4) „ 0,25 „ $\frac{1}{16}$ „ „ „
- 5) „ 0,25 „ $\frac{1}{18}$ „ „ „
- 6) „ 0,25 „ $\frac{1}{20}$ „ „ „
- 7) „ 0,25 „ $\frac{1}{22}$ „ „ „
- 8) „ 0,25 „ $\frac{1}{24}$ „ „ „
- 9) „ 0,25 „ $\frac{1}{26}$ „ „ „
- 10) „ 0,25 „ $\frac{1}{28}$ „ „ „
- 11) „ 0,25 „ physiologischer NaCl-Lösung.

Sodann wird mit den entsprechenden Mengen Normal-NaOH-Lösung (Volumen 0,25 ccm) neutralisiert.

Nach dieser Vorbehandlung der Meerschweinchensera erfolgt
 in Versuchshälfte I Zusatz von je 0,2 ccm 6-fach verdünnter 1-proz. Cobragiftlösung;
 in Versuchshälfte II Zusatz von je 0,2 ccm physiologischer NaCl-Lösung.

Nach 1-stündiger Digestion der Gemische im Brutschrank erfolgt Zusatz von je 3,8 ccm physiologischer NaCl-Lösung.

Hierauf wird der Komplementgehalt der so erhaltenen 10-fachen Meerschweinchenserum-Verdünnungen unter Verwendung von 0,1 ccm Ambozeptorverdünnung und 1,0 ccm Hammelblut austitriert (Gesamtvolumen 2,1 ccm).

Das Ergebnis nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt Tabelle II.

Tabelle II.
Versuchshälfte I.

Mengen des Meerschw.- Serums ccm	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunserum und absteigende Mengen Meerschweinchenserum, letzteres digeriert mit Cobragiftlösung nach Vorbehandlung mit										
	Normalsalzsäure in den Mengen										NaCl- Lösung.
	1. $\frac{1}{10}$ 0,25	2. $\frac{1}{12}$ 0,25	3. $\frac{1}{14}$ 0,25	4. $\frac{1}{16}$ 0,25	5. $\frac{1}{18}$ 0,25	6. $\frac{1}{20}$ 0,25	7. $\frac{1}{22}$ 0,25	8. $\frac{1}{24}$ 0,25	9. $\frac{1}{26}$ 0,25	10. $\frac{1}{28}$ 0,25	11. 0,25
0,1	k	k	k	k	k	k	k	m	w	Sp	Spch
0,05	st	st	k	fk	fk	fk	m	Sp	Sp	Spch	0
0,025	Spch	Spch	Sp	Sp	Sp	Spch	Spch	Spch	Spch	0	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuchsreihe II.

Mengen des Meerschw.- Serums ccm	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunserum und absteigende Mengen Meerschweinchenserum, letzteres digeriert mit Kochsalzlösung nach Vorbehandlung mit										
	Normalsalzsäure in den Mengen										NaCl- Lösung.
	1. $\frac{1}{10}$ 0,25	2. $\frac{1}{12}$ 0,25	3. $\frac{1}{14}$ 0,25	4. $\frac{1}{16}$ 0,25	5. $\frac{1}{18}$ 0,25	6. $\frac{1}{20}$ 0,25	7. $\frac{1}{22}$ 0,25	8. $\frac{1}{24}$ 0,25	9. $\frac{1}{26}$ 0,25	10. $\frac{1}{28}$ 0,25	11. 0,25
0,1	fk	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,05	Sp	Sp	w	m	m	m—st	fk	fk	k	k	k
0,025	Spch	Spch	Spch	Spch	Spch	Spch	Sp	Sp	Sp	w	fk
0,015	0	0	0	0	0	0	Spch	Spch	Spch	Sp	w
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Spch	Spch
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die Inaktivierbarkeit durch Cobragift bei vorhergehender Einwirkung geeigneter Salzsäuremengen vollständig aufgehoben ist, obwohl der Komplementgehalt mit dem Grade der Säurebehandlung fortschreitend abnimmt. Bei hinreichenden Salzsäuremengen zeigt sich sogar, daß die mit Cobragift nachbehandelten Serumproben etwas stärker hämo-

lytisch wirken als die nichtvorbehandelten und der Säurewirkung ausgesetzt gewesen. Es erklärt sich dies wohl ohne weiteres daraus, daß in diesem Fall die durch Cobragiftwirkung nicht geschädigte Komplementfunktion durch die sie vermittelnde Wirkung des Cobragiftes eine Verstärkung erfährt.

Wie das folgende Versuchsbeispiel zeigt, tritt der verändernde Einfluß, den die Säureeinwirkung auf das Meerschweinchenserum ausübt, ziemlich rasch ein (vgl. Tabelle III).

Je 0,5 ccm frisches Meerschweinchenserum werden in 2 parallel angesetzten Versuchshälften I und II mit je 0,25 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-HCl gemischt und

- 1) sofort nach der Mischung,
- 2) 5 Minuten nach der Mischung,
- 3) 10 " " " "

mit je 0,25 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-NaOH neutralisiert.

Nach dieser Vorbehandlung der Meerschweinchensera erfolgt

in Hälfte I Zusatz von je 0,2 ccm 6-fach verdünnter 1-proz. Cobragiftlösung,

in Hälfte II Zusatz von je 0,2 ccm physiologischer NaCl-Lösung.

Nach $1\frac{1}{4}$ -ständiger Digestion der Gemische im Brutschrank erfolgt Zusatz von je 3,8 ccm physiologischer NaCl-Lösung.

Hierauf wird der Komplementgehalt der so erhaltenen 10-fachen Meerschweinchenserum-Verdünnungen unter Verwendung von 1,0 ccm Hammelblut und 0,1 ccm Ambozeptorverdünnung austitriert (Gesamtvolumen 2,1 ccm).

Das Ergebnis nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Mengen des Meer- schweinchens- serums	Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und absteigende Mengen Meerschweinchenserum, letzteres digeriert mit					
	I Cobragiftlösung			II NaCl-Lösung		
	nach Vorbehandlung mit HCl			nach Vorbehandlung mit HCl		
	1. 0 Min.	2. 5 Min.	3. 10 Min.	1. 0 Min.	2. 5 Min.	3. 10 Min.
0,1	0	Sp	k	k	k	k
0,05	0	Spch	st	k	k	st
0,025	0	0	0	Sp	Spch	0
0,015	0	0	0	Spch	0	0
0,01	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß schon nach 5 Minuten langer Salzsäureeinwirkung eine Abnahme der Inaktivierbarkeit eingetreten ist, und daß dieselbe bereits nach 10 Minuten langer Einwirkung der Salzsäure auf das Meerschweinchen Serum ihr Maximum erreicht.

So zeigt sich also, daß auch für die Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenkomplements im salzarmen Medium und durch Cobragift dasselbe gilt, wie für die Inaktivierbarkeit durch Bakterien, daß nämlich die Inaktivierbarkeit des Komplements aufgehoben werden kann, trotzdem eine mehr oder weniger große Quote der Komplementfunktion erhalten ist. Zur Uebersicht lasse ich noch ein Versuchsbeispiel folgen, das unter Anwendung der verschiedenen in Betracht kommenden Inaktivierungsarten (Cobragift, Bakterien und destilliertes Wasser) den Einfluß der Salzsäure und Natronlauge auf die Inaktivierbarkeit des Komplements demonstriert.

Je 0,5 ccm frisches Meerschweinchen Serum werden in 6 parallel angesetzten Versuchsreihen I, II, III, IV, V und VI mit

- 1) 0,25 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-HCl,
- 2) 0,25 „ $\frac{1}{15}$ „ „
- 3) 0,25 „ $\frac{1}{20}$ „ „
- 4) 0,25 „ physiologischer NaCl,
- 5) 0,25 „ $\frac{1}{10}$ Normal-NaOH,
- 6) 0,25 „ $\frac{1}{15}$ „ „
- 7) 0,25 „ $\frac{1}{20}$ „ „
- 8) 0,25 „ physiologischer NaCl

$\frac{1}{2}$ Stunde im Brutschrank digeriert.

Sodann werden die Gemische mit den entsprechenden Mengen NaOH bzw. HCl (Volumen 0,25 ccm) neutralisiert.

Nach dieser Vorbehandlung der Meerschweinchen Seren erfolgt

in Versuchsreihe I Zusatz von je 0,2 ccm 6-fach verdünnter 1-proz. Cobragiftlösung,

in Versuchsreihe II Zusatz von je 0,2 ccm einer Kulturaufschwemmung von *Staphylococcus aureus*,

in Versuchsreihe III Zusatz von je 0,2 ccm einer Kulturaufschwemmung von *Bacillus prodigiosus*,

in Versuchsreihe IV (Kontrollreihe) Zusatz von je 0,2 ccm physiologischer NaCl-Lösung,

in Versuchsreihe V Zusatz von je 3,6 ccm Aqua destillata,

in Versuchsreihe VI (Kontrollreihe) Zusatz von je 3,6 ccm physiologischer NaCl-Lösung.

Nach $1\frac{1}{4}$ -stündiger Digestion der Gemische im Brutschrank erfolgt in den Reihen I—IV Zusatz von je 3,8 ccm physiologischer NaCl-Lösung, in Reihe V zur Herstellung der Isotonie Zusatz von je 0,4 ccm 10-proz. NaCl-Lösung, in Reihe VI zur entsprechenden Auffüllung Zusatz von je 0,4 ccm physiologischer NaCl-Lösung.

Hierauf wird der Komplementgehalt aller so erhaltenen 10-fachen Meerschweinchenserum-Verdünnungen unter Verwendung von je 1,0 ccm Hammelblut und je 0,1 ccm Ambozeptorverdünnung ausstitriert (Gesamt-volumen 2,1 ccm).

Das Ergebnis nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Versuchsreihe I.

(Versuch unter Verwendung von Cobragift.)

Mengen des Meer- schweinchen- serums	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunserum und absteigende Mengen Meerschweinchenserum; letzteres digeriert mit Cobragiftlösung nach Vorbehandlung mit							
	Normalsalzsäure in den Mengen			NaCl	Normalnatronlauge in den Mengen			NaCl
	1. ccm	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
	$\frac{1}{10}$ 0,25	$\frac{1}{15}$ 0,25	$\frac{1}{20}$ 0,25	0,25	$\frac{1}{10}$ 0,25	$\frac{1}{15}$ 0,25	$\frac{1}{20}$ 0,25	0,25
0,1	k	k	w	0	0	Spch	0	0
0,05	m	w	Spch	0	0	0	0	0
0,025	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuchsreihe II.

(Versuch unter Verwendung von Staphylococcus aureus.)

Mengen des Meer- schweinchen- serums	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunserum und absteigende Mengen Meerschweinchenserum; letzteres digeriert mit Staphylococcus aureus nach Vorbehandlung mit							
	Normalsalzsäure in den Mengen			NaCl	Normalnatronlauge in den Mengen			NaCl
	1. ccm	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
	$\frac{1}{10}$ 0,25	$\frac{1}{15}$ 0,25	$\frac{1}{20}$ 0,25	0,25	$\frac{1}{10}$ 0,25	$\frac{1}{15}$ 0,25	$\frac{1}{20}$ 0,25	0,25
0,1	m	fk	Sp	Sp	Spch	w	m	Sp
0,05	Spch	Sp	0	0	0	Spch	Spch	0
0,025	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuchsreihe III.

(Versuch unter Verwendung von *Bacillus prodigiosus*.)

Mengen des Meer- schweinchen- serums	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunsérum und absteigende Mengen Meerschweinchen-sérum; letzteres digeriert mit <i>Bacillus prodigiosus</i> nach Vorbehandlung mit							
	Normalsalzsäure in den Mengen			NaCl	Normalnatronlauge in den Mengen			NaCl
	1. $\frac{1}{10}$ 0,25	2. $\frac{1}{15}$ 0,25	3. $\frac{1}{20}$ 0,25	4. 0,25	5. $\frac{1}{10}$ 0,25	6. $\frac{1}{15}$ 0,25	7. $\frac{1}{20}$ 0,25	8. 0,25
0,1	fk	k	k	0	Sp	k	k	0
0,05	Sp	w	w	0	0	fk	fk	0
0,025	0	0	0	0	0	Spch	Spch	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuchsreihe IV (Kontrolle).

(Versuch unter Verwendung von Kochsalzlösung.)

Mengen des Meer- schweinchen- serums	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunsérum und absteigende Mengen Meerschweinchen-sérum; letzteres digeriert mit Kochsalzlösung nach Vorbehandlung mit							
	Normalsalzsäure in den Mengen			NaCl	Normalnatronlauge in den Mengen			NaCl
	1. $\frac{1}{10}$ 0,25	2. $\frac{1}{15}$ 0,25	3. $\frac{1}{20}$ 0,25	4. 0,25	5. $\frac{1}{10}$ 0,25	6. $\frac{1}{15}$ 0,25	7. $\frac{1}{20}$ 0,25	8. 0,25
0,1	k	k	k	k	k	k	k	k
0,05	m	fk	k	k	fk	k	k	k
0,025	0	0	Sp	k	Spch	Sp	w	k
0,015	0	0	Spch	m	0	Spch	Spch	m
0,01	0	0	0	w	0	0	0	w
0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuchsreihe V.

(Versuch unter Verwendung von Aqua destillata.)

Mengen des Meer- schweinchen- serums	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunsérum und absteigende Mengen Meerschweinchen-sérum; letzteres digeriert mit Aqua destillata nach Vorbehandlung mit							
	Normalsalzsäure in den Mengen			NaCl	Normalnatronlauge in den Mengen			NaCl
	1. $\frac{1}{10}$ 0,25	2. $\frac{1}{15}$ 0,25	3. $\frac{1}{20}$ 0,25	4. 0,25	5. $\frac{1}{10}$ 0,25	6. $\frac{1}{15}$ 0,25	7. $\frac{1}{20}$ 0,25	8. 0,25
0,1	m	w	m	0	0	0	0	0
0,05	Sp	0	0	0	0	0	0	0
0,025	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuchsreihe VI (Kontrolle).
(Versuch unter Verwendung von Kochsalzlösung.)

Mengen des Meer- schweinchen- serums	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunsérum und absteigende Mengen Meerschweinchen-sérum; letzteres digeriert mit Kochsalzlösung nach Vorbehandlung mit								
	Normalsalzsäure in den Mengen			NaCl	Normalnatronlauge in den Mengen			NaCl	
	1. 1/10 0,25	2. 1/15 0,25	3. 1/10 0,25	4. 0,25	5. 1/10 0,25	6. 1/15 0,25	7. 1/10 0,25	8. 0,25	
0,1	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,05	fk	k	k	k	k	k	k	k	k
0,025	0	Spch	w	k	Spch	Sp	w	k	k
0,015	0	0	Spch	m	0	Spch	Spch	m	m
0,01	0	0	0	w	0	0	0	w	w
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Das Versuchsbeispiel bedarf keiner besonderen Erklärung. Es zeigt, daß die Inaktivierbarkeit im salzarmen Medium und durch Cobragift wesentlich nur durch Salzsäure, diejenige durch Bakterienaufschwemmungen dagegen auch durch Natronlauge aufgehoben werden kann. Das ist freilich ein unterschiedliches Verhalten, dessen Ursachen sich vorläufig der Beurteilung ebenso entziehen wie die Tatsache, daß für die Inaktivierbarkeit im salzarmen Medium gerade das kurzdauernde Erhitzen des Sérums den geeigneten Eingriff zur „Stabilisierung“ der Komplementfunktion darstellt. Das Gemeinsame der besprochenen Erscheinungen aber glaube ich in dem Umstand erblicken zu sollen, daß es bei allen behandelten Formen der Komplementinaktivierung (Inaktivierung durch salzfreies Medium, Bakterien und Cobragift) durch äußere Einflüsse möglich ist, die Inaktivierbarkeit des Komplements aufzuheben. Diese Formen der indirekten antikomplementären Wirkung sind daher übereinstimmend charakterisiert:

- 1) durch die Abhängigkeit von der Serumkonzentration,
- 2) durch die Abhängigkeit von der Serumbeschaffenheit, die durch künstliche Einflüsse (Erhitzen, Salzsäure, Natronlauge) so verändert werden kann, daß der Komplementwirkung gewissermaßen eine Resistenz verliehen wird.

II. Das Verhalten der dritten Komponente im inaktiven Serum gegenüber inaktivierenden Einflüssen.

Was die sogenannte „dritte Komponente“ anlangt, so läßt sich über deren besondere Wirkungsart vorläufig nichts Bestimmtes aussagen. Wir wissen nur, daß es sich um eine relativ stabile Funktion des Meerschweinchenserums handelt, die wir durch ihre Fähigkeit, das indirekt inaktivierte Meerschweinchenserum zu restituieren, als „dritte Komponente“ bezeichnen. Schon Ritz¹⁾ hat aber gezeigt, daß es sich nur um einen relativen Grad von Stabilität handelt, und daß bei Einwirkung höherer Temperaturen schließlich auch die als „dritte Komponente“ bezeichnete Teilfunktion erlischt.

Andererseits aber war, wie schon eingangs erwähnt, zu erwarten, daß die „dritte Komponente“ durch diejenigen Eingriffe, durch die ihre Funktion im aktiven Serum aufgehoben wird, im inaktiven Serum nicht mehr tangiert werden kann. Denn die Vermittlerrolle, die eben die Alterierbarkeit der Globuline darstellt, ist durch das Inaktivieren des Serums aufgehoben bzw. abgeschwächt. Meine Versuche in dieser Richtung, die sich auf die Inaktivierbarkeit der „dritten Komponente“ im thermoinaktivierten Serum durch Cobragift und Prodigiosusbacillen beziehen, entsprechen dieser Erwartung, wie es das folgende Versuchsbeispiel demonstriert.

In 3 parallelen Versuchsreihen werden

- I. je 0,5 ccm aktiven Meerschweinchenserums,
- II. „ 0,5 „ inaktiven „ (1/4 Stunde 54°),
- III. „ 0,5 „ aktiven „

mit

- a) je 0,2 ccm 6-fach verdünnter 1-proz. Cobragiftlösung,
- b) „ 0,2 „ einer Aufschwemmung von *Bacillus prodigiosus*,
- c) „ 0,2 „ Kochsalzlösung

1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert.

Sodann werden die Serumproben der Reihen I und II durch Zusatz von je 4,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung 10-fach verdünnt, diejenigen der Reihe III durch 1/4-stündiges Erhitzen auf 54° inaktiviert und dann 10-fach verdünnt.

Hierauf werden die Serumproben der Reihe I unter Zusatz von je 1,0 ccm 10-fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung auf ihren Komplementgehalt, die Serumproben der Reihen II und III unter Zu-

1) H. Ritz, l. c.

satz von je 0,2 ccm Cobra-Meerschweinchenserum und je 1,0 ccm 10-fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung auf ihren Gehalt an dritter Komponente ausgewertet.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt Tabelle V.

Tabelle V.

Mengen des Meer- schweinchen- serums	Hämolyse von sensibilisiertem Hammelblut durch								
	I absteigende Mengen von aktivem Meer- schweinchenserum, letzteres nach Vor- behandlung mit			II 0,2 ccm Cobra-Meer- schweinchenserum u. ab- steigende Mengen inak- tives Meerschweinchen- serum, letzteres nach Vor- behandlung mit			III 0,2 ccm Cobra-Meer- schweinchenserum u. ab- steigende Mengen nach- träglich inaktiviertes Meerschweinchenserum, letzteres nach Vorbe- handlung mit		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
	0,2 Cobragift- lösung	0,2 Bac. prodig.	0,2 NaCl	0,2 Cobragift- lösung	0,2 Bac. prodig.	0,2 NaCl	0,2 Cobragift- lösung	0,2 Bac. prodig.	0,2 NaCl
ccm									
¹ / ₁₀ 1,0	0	0	k	k	k	k	0	0	k
0,5	0	0	k	k	k	k	0	0	k
0,25	0	0	fk	m	k	k	0	0	m
0,15	0	0	st	Sp	fk	fk	0	0	w
0,1	0	0	Sp	Sp	st	st	0	0	Sp
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, ist (vgl. Teil I der Tabelle) im aktiven Serum die Komplementfunktion nach Vorbehandlung des Meerschweinchenserums mit Cobragift und Prodigiosusbacillen prompt erloschen; dagegen zeigt Teil II der Tabelle, daß eine Abschwächung der das Cobra-Meerschweinchenserum restituierenden Funktion des inaktiven Meerschweinchenserums durch Prodigiosusbacillen überhaupt nicht mehr gelungen ist, durch Cobragift aber nur eine verhältnismäßig geringfügige Abschwächung stattgefunden hat. Daß hier nicht etwa eine Summation der Wirkungen vorliegt, die zu einem hämolytischen Effekt geführt haben, zeigt Teil III der Tabelle, in der das mit Cobragift bzw. Prodigiosusbacillen vorbehandelte Meerschweinchenserum nachträglich inaktiviert wurde. Auch hier bleibt trotz des Zusammenwirkens der derartig inaktivierten Sera mit Cobra-Meerschweinchenserum die Hämolyse aus, wie ja nicht anders zu erwarten war.

Allerdings mag es auffallen, daß die Kontrollreihe c Teil III weniger starke Hämolyse zeigt als die Kontrollreihe c Teil II. Der Unterschied ist hier nur darin gelegen, daß in II c das Meerschweinchenserum in inaktivem Zustand $1\frac{1}{4}$ Stunde lang im Brutschrank stand, daß in III c aber das aktive Meerschweinchenserum zuvor $1\frac{1}{4}$ Stunde lang im Brutschrank gelassen und erst dann inaktiviert wurde. Es dürfte daher nahe liegen, anzunehmen, daß das aktive Meerschweinchenserum durch den Aufenthalt im Brutschrank eine gewisse Abschwächung in seiner Fähigkeit, als „dritte Komponente“ zu wirken, erfahren hat, während durch das zuvorige Inaktivieren ein gewisser Schutz gegen diesen spontanen Schwund der aktivierenden Funktion bewirkt wird.

Jedenfalls ergibt sich aus meinen Versuchen, daß das Meerschweinchenserum durch das Inaktivieren eine Resistenz gegenüber denjenigen Einflüssen erworben hat, die sowohl das Cobragift als auch die *Prodigiosus* bacillen gegenüber dem aktiven Serum ausüben, und wenn wir den Funktionsverlust kurz auf den Schwund der sogenannten „dritten Komponente“ beziehen, so kann man sagen, daß durch das Erhitzen des Serums die „dritte Komponente“ eine gewisse Resistenz erworben hat.

Ich habe auch geprüft, wie die Verhältnisse bei entsprechender Versuchsanordnung unter Inaktivierung im salzarmen Medium liegen. Freilich dürfte dabei zu berücksichtigen sein, daß die Bedingungen bei dieser Inaktivierungsform in bezug auf die Bestimmung der zuerst schwindenden Komponente des Komplements nicht ganz so durchsichtig liegen wie bei anderen Inaktivierungsarten [vgl. Sachs und Bolkowska¹⁾]. Immerhin wird man nach Sachs und Bolkowska und Hirschfeld und Klinger²⁾ auch hier an erster Stelle an die Beeinflussung der „dritten Komponente“ denken müssen. Wie dem aber auch sei, jedenfalls konnte ich, wie das folgende Versuchsbeispiel zeigt, feststellen, daß die Funktion des inaktiven Meerschweinchenserums, als „dritte Komponente“ im Verein mit Cobra-Meerschweinchenserum zu wirken, durch Verdünnen mit destilliertem Wasser keine Einbuße erleidet.

1) H. Sachs und G. Bolkowska, diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, p. 778.

2) L. Hirschfeld und R. Klinger, l. c.

Je 1,5 ccm inaktives Meerschweinchenserum ($\frac{1}{4}$ Stunde 55°) werden

A. unter Zusatz von je 12,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung,

B. „ „ „ „ 12,3 „ destilliertem Wasser

$1\frac{1}{4}$ Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert.

Nach Zusatz von 1,2 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung (A) bzw. von 1,2 ccm 10-proz. Kochsalzlösung (B) werden die resultierenden 10-fachen Serumverdünnungen unter Zusatz von je 0,1 ccm Cobra-Meerschweinchenserum und je 1,0 ccm 10-fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung auf ihren Gehalt an dritter Komponente ausgewertet.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt Tabelle VI.

Tabelle VI.

Mengen des inaktiven Meer- schweinchen- serums ccm	Hämolyse von sensibilisiertem Hammelblut durch 0,1 ccm Cobra-Meerschweinchenserum und absteigende Mengen von inaktivem Meerschweinchenserum; letzteres nach Digestion in	
	A. physiolog. Kochsalzlösung	B. destilliertem Wasser
0,1	k	k
0,05	k	k
0,025	m	m
0,015	Sp	Sp
0,01	Sp	Sp
0	0	0

Im Anschluß an die Untersuchungen über die Resistenz der „dritten Komponente“ im inaktiven Meerschweinchenserum habe ich eine Reihe von Versuchen über das Verhalten der „dritten Komponente“ gegenüber destruktiven Einflüssen angestellt. Ich benutzte dabei hauptsächlich durch halbstündiges Erwärmen auf 55° inaktiviertes Schweineserum, das, wie Jonas¹⁾ gezeigt hat, durch seine außerordentliche Kraft, als „dritte Komponente“ zu wirken, ausgezeichnet ist. Ich konnte zunächst feststellen, daß durch stärkere Salzsäure- und Natronlaugekonzentrationen auch die Funktion der „dritten Komponente“ aufgehoben werden kann²⁾.

Wenn ich im folgenden ein besonderes Versuchsbeispiel hierfür anführe, so geschieht es aus dem Grunde, weil vielleicht der quantitativ verschiedenartige Einfluß von Salzsäure und Natronlauge je nach dem Verdünnungsgrad des Schweineserums nicht ohne Interesse sein dürfte.

1) Jonas, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, 1913, p. 338.

2) Das gleiche gilt auch für die nach Cobragifteinwirkung bestehende Teilfunktion des Komplements.

In zwei Parallelreihen werden

A. je 0,5 ccm inaktiven Schweineserums mit

- a) 0,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Salzsäure,
- b) 0,5 „ $\frac{1}{20}$ „ „
- c) 0,5 „ $\frac{1}{50}$ „ „
- d) 0,5 „ $\frac{1}{10}$ Normal-Natronlauge,
- e) 0,5 „ $\frac{1}{20}$ „ „
- f) 0,5 „ $\frac{1}{50}$ „ „

B. je 0,5 ccm 10-fach verdünnten inaktiven Schweineserums mit

- a) 0,5 ccm $\frac{1}{100}$ Normal-Salzsäure,
- b) 0,5 „ $\frac{1}{200}$ „ „
- c) 0,5 „ $\frac{1}{100}$ Normal-Natronlauge,
- d) 0,5 „ $\frac{1}{200}$ „ „

1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert und hierauf mit den entsprechenden Natronlauge- bzw. Salzsäuremengen neutralisiert.

C. Kontrollreihe mit unbehandeltem Schweineserum.

Hierauf werden die Serumverdünnungen in absteigenden Mengen unter Zusatz von 0,1 ccm Cobra-Meerschweinchenserum und je 1,0 ccm 10-fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung auf ihren Gehalt an dritter Komponente ausgewertet.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt Tabelle VII.

Tabelle VII.

Mengen des inaktiven Schweine- serums		Hämolyse von sensibilisiertem Hammelblut durch 0,1 ccm Cobra-Meer- schweinchenserum und absteigende Mengen Schweineserum, letzteres vor- behandelt mit Salzsäure bzw. Natronlauge										C. Kontrolle: natives Schweine- serum
		A.					B.					
		in 2-facher Verdünnung					in 20-facher Verdünnung					
		bei einem Gehalt von					bei einem Gehalt von					
ccm	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d		
	$\frac{1}{20}$ HCl	$\frac{1}{40}$ HCl	$\frac{1}{100}$ HCl	$\frac{1}{20}$ NaOH	$\frac{1}{40}$ NaOH	$\frac{1}{100}$ NaOH	$\frac{1}{200}$ HCl	$\frac{1}{400}$ HCl	$\frac{1}{200}$ NaOH	$\frac{1}{400}$ NaOH		
$\frac{1}{100}$	1,0	0	k	k	0	st	k	0	k	k	k	k
	0,5	0	k	k	0	w	k	0	k	st	k	k
	0,25	0	k	k	0	Sp	k	0	k	w	k	k
	0,15	0	fk	k	0	Spch	k	0	fgk	Sp	k	k
$\frac{1}{1000}$	1,0	0	w	fk	0	0	fk	0	w	Spch	st	k
	0,5	0	Sp	w	0	0	w	0	Sp	0	Sp	w
	0,25	0	Spch	Sp	0	0	Sp	0	Spch	0	Spch	Sp
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, bewirkt bei zweifacher Serumverdünnung ein Gehalt von $\frac{1}{40}$ Normal-Natronlauge eine stärkere Zerstörung als ein Gehalt von $\frac{1}{40}$ Normal-Salzsäure. Dagegen übt bei 20-facher Serumverdünnung ein Gehalt von $\frac{1}{200}$ Normal-Salzsäure einen stärkeren Einfluß aus, als ein Gehalt von $\frac{1}{200}$ Normal-Natronlauge. Ich habe diesen Unterschied in mehreren gleichsinnigen Versuchen übereinstimmend

gefunden. Man muß danach wohl annehmen, daß diejenigen Einflüsse, welche Salzsäure und Natronlauge auf das Serum ausüben, zugleich von der Konzentration des Serums abhängen und, wie das Versuchsbeispiel zeigt, mit der Veränderung der Serumkonzentration ein direkt umgekehrtes Verhältnis annehmen können. Ueber die Ursachen der Erscheinung kann man verschiedene Vermutungen hegen. Es könnte einerseits eine Abhängigkeit der Denaturierung von Eiweißkörpern von der Konzentration, andererseits eine Abhängigkeit des Dispersitätsgrades und seiner Beeinflussung von der Verdünnung (vgl. P. Schmidt) in Frage kommen.

Daß tatsächlich eine Beeinflussung des Dispersitätsgrades auch für die „dritte Komponente“ im Schweineserum in Betracht gezogen werden kann, zeigen meine Versuche über ihre Beeinflussung durch Kaolin und durch Schütteln. Ueber die Wirkung des Kaolins gibt folgendes Versuchsbeispiel Auskunft.

Je 0,5 g Kaolin werden mit je 3 ccm inaktivem Schweineserum

A. unverdünnt,

B. in 10-facher Verdünnung

1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert.

C. Kontrollreihe mit unbehandeltem Schweineserum.

Hierauf werden die Kaolin enthaltenden Serumproben zentrifugiert und die Abgüsse unter Zusatz von 0,1 ccm Cobra-Meerschweinchenserum und 1,0 ccm 10-fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung auf ihren Gehalt an dritter Komponente ausgewertet.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

Mengen des inaktiven Schweine- serums	Hämolyse von sensibilisiertem Hammelblut durch 0,1 ccm Cobra-Meerschweinchenserum und absteigende Mengen von inaktivem Schweineserum		
	letzteres nach Vorbehandlung mit Kaolin		unbehandeltes Schweineserum
	A. unverdünnt	B. in 10-facher Verdünnung	C. Kontrolle
ccm			
$\frac{1}{100}$ 1,0	k	0	k
0,5	k	0	k
0,25	k	0	k
0,15	k	0	k
0,1	k	0	k
$\frac{1}{1000}$ 0,5	m	0	fk
0,25	w	0	m
0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, ist im unverdünnten Schweineserum die „dritte Komponente“ fast gar nicht beeinflußt worden, während im 10-fach verdünnten Schweineserum durch die gleiche Kaolinmenge unter den gegebenen Versuchsbedingungen eine vollkommene Inaktivierung bewirkt wurde.

Die Tatsache, daß bei der Absorption des Serums durch Kaolin die Verdünnung von Bedeutung ist, entspricht älteren Erfahrungen über die Adsorption des Komplements durch Kaolin und andere Stoffe. So hat sich bereits aus den Untersuchungen von Andrejew¹⁾ ergeben, daß die Adsorption des Komplements durch Kieselgur und Kohle mit steigender Serumverdünnung zunimmt, und dem entsprechen Versuche von Schmidt²⁾ über die Inaktivierung des Komplements bei der Filtration durch Kerzen.

Um über die Inaktivierbarkeit der „dritten Komponente“ des Schweineserums durch Schütteln Aufschluß zu erhalten, habe ich mich nach dem Vorgang von Ritz mit halbstündigem Schütteln des Serums im Kinotherm begnügt.

Je 10 ccm inaktives Schweineserum ($\frac{1}{2}$ Stunde 55°) werden

- a) in 10-facher Verdünnung,
- b) in 20-facher Verdünnung,
- c) in 50-facher Verdünnung,
- d) in 100-facher Verdünnung

30 Minuten lang im Kinotherm bei 37° geschüttelt.

In einer Kontrollreihe e) werden 10 ccm einer 100-fachen Schweineserumverdünnung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° ungeschüttelt gehalten.

Hierauf werden die so vorbehandelten Serumproben unter Zusatz von 0,1 ccm Cobra-Meerschweinchenserum und 1,0 ccm 10-fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung auf ihren Gehalt an dritter Komponente ausgewertet.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle IX.

1) P. Andrejew, Arb. aus d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 33, 1909, p. 84; Bd. 33, 1910, p. 377.

2) P. Schmidt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, 1911, p. 513.

Tabelle IX.

Mengen des Schweine- serums	Hämolyse von sensibilisiertem Hammelblut durch 0,1 ccm Cobra-Meerschweinchenserum und inaktives Schweine- serum, letzteres				
	nach Schütteln im Kinotherm in der Verdünnung				unge- schüttelte Kontrolle
	a $\frac{1}{10}$	b $\frac{1}{20}$	c $\frac{1}{50}$	d $\frac{1}{100}$	e
ccm					
$\frac{1}{100}$ 1,0	k	k	k	0	k
0,5	k	k	k	0	k
0,25	k	k	k	0	k
0,15	k	k	m	0	k
0,1	k	k	w	0	k
$\frac{1}{1000}$ 0,5	m	m	Sp	0	m
0,25	w	w	Spch	0	w
0	0	0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, ergibt sich auch hier die gleiche Abhängigkeit der Schüttelinaktivierung von der Serumkonzentration, wie sie Ritz für die Inaktivierung des Gesamtkomplements durch Schütteln nachgewiesen hat. Eine vollständige Inaktivierung ist erst bei 100-facher Verdünnung des Serums eingetreten. Diese Möglichkeit, die „dritte Komponente“ des Schweineserums durch Schütteln zu inaktivieren, steht in scheinbarem Widerspruch zu meinen Versuchen über die Resistenz der „dritten Komponente“ gegenüber anderen Einflüssen. Jedoch muß man dabei berücksichtigen, daß diese Versuche mit Meerschweinchenserum ausgeführt wurden, während es sich hier um die „dritte Komponente“ des Schweineserums handelt, das schon durch die außerordentlich starke aktivierende Kraft augenscheinlich eine Sonderrolle spielt. Um ein endgültiges Urteil zu fällen, dazu stehen mir leider aus äußeren Gründen nicht hinreichende Versuche zur Verfügung. Ich muß mich daher mit der Feststellung der Tatsachen begnügen und es vorläufig dahingestellt sein lassen, ob die Schüttelinaktivierung mit der Inaktivierung durch Cobragift und Prodigiosusbacillen nicht bzw. nicht vollständig wesensgleich ist, oder aber ob die Verhältnisse so liegen, daß das Schweineserum durch Inaktivieren die dem inaktiven Meerschweinchenserum eigne Resistenzerhöhung nicht

erfährt. Die letztere Möglichkeit ist sehr wohl in Betracht zu ziehen, einerseits wegen der quantitativen Unterschiede, die im Gehalt des Meerschweinchenserums und Schweineserums an „dritter Komponente“ bestehen, andererseits auch wegen der Verschiedenheiten des physikalischen Verhaltens der Sera, wie sie sich insbesondere aus den Versuchen von Schmidt und Liebers ergeben haben ¹⁾).

III. Zur Kenntnis der antikomplementären Präzipitatwirkung.

Anhangsweise seien noch einige orientierende Versuche über die antikomplementäre Wirkung von Präzipitaten kurz erwähnt. Die Präzipitate wurden in der Weise hergestellt, daß 1 Teil 5-facher Verdünnung von Menschenserum mit $\frac{1}{5}$ Teil präzipitierenden Menschen-Kaninchenserums gemischt, 3 Stunden im Brutschrank bei 37° digeriert und über Nacht im Eisschrank gehalten wurden ²⁾. Am nächsten Morgen wurde das Präzipitat abzentrifugiert, 3mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer dichten Emulsion aufgeschwemmt.

Bei den Versuchen ergab sich, daß die antikomplementäre Wirkung der von mir benutzten Präzipitate sich in manchen Punkten wesentlich von der Komplementinaktivierung durch Cobragift und durch Prodigiosusbacillen unterschied. Zunächst war in der antikomplementären Wirkung der Präzipitate bei 37° und bei 0° kaum ein Unterschied wahrzunehmen; dann aber schien auch eine Abhängigkeit der antikomplementären Wirkung von der Serumkonzentration, wie sie für die genannten Inaktivierungsarten besteht, bei der antikomplementären Präzipitatwirkung nicht wesentlich in Betracht zu kommen. Ferner gelang es nicht, durch Vorbehandeln des Meerschweinchenserums mit Salzsäure und Natronlauge die antikomplementäre

1) P. Schmidt und M. Liebers, l. c.

2) Das Antiserum präzipitierte Menschenserum in der Verdünnung 1:10 000.

Wirkung der Präzipitate aufzuheben¹⁾. Endlich erscheint die Tatsache von Interesse, daß es bereits durch kurzes Erhitzen, im günstigsten Falle schon durch 20 Sekunden langes Erwärmen des Präzipitates auf 100° möglich war, die antikomplementäre Präzipitativwirkung aufzuheben, wie es das folgende Versuchsbeispiel demonstriert.

Absteigende Mengen von

I. rohem Präzipitat,

II. 5 Minuten lang auf 100° im Wasserbad erhitztem Präzipitat werden mit

a) je 0,1 ccm aktiven Meerschweinchenserums,

b) je 0,05 ccm aktiven Meerschweinchenserums

1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert.

Sodann erfolgt Zusatz von je 1,0 ccm Hammelblut-Aufschwemmung und je 0,1 ccm Ambozeptorverdünnung.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle X.

Tabelle X.

Mengen des Präzipitats ccm	Hämolyse von Hammelblut durch hämolytisches Immunserum und Meerschweinchenserum, letzteres nach Digestion mit			
	I rohem Präzipitat		II gekochtem Präzipitat	
	a	b	a	b
	0,1 ccm M.-S.	0,05 ccm M.-S.	0,1 ccm M.-S.	0,05 ccm M.-S.
0.5	0	0	k	k
0.25	0	0	k	k
0.15	0	0	k	k
¹ / ₁₀ 1.0	Sp	0	k	k
0.5	st	0	k	k
0.25	k	m	k	k
0.15	k	st	k	k
0.1	k	k	k	k
0	k	k	k	k

1) Erwähnt sei, daß nach bisherigen Erfahrungen auch die Brauchbarkeit des Meerschweinchenserums zur Ausführung der Wassermannschen Reaktion durch Vorbehandlung mit Salzsäure oder Natronlauge nicht beeinflußt wird.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß das Präzipitat gegenüber der halben Komplementdosis etwa doppelt so stark antikomplementär wirkt, wie gegenüber der ganzen. Außerdem aber ergibt sich aus der Tabelle, daß durch ganz kurzes Erhitzen der Präzipitataufschwemmung deren antikomplementäre Wirkung erlischt. Das scheint mir insofern von Interesse zu sein, als es gegen die Auffassung des Präzipitates bzw. des im Präzipitat enthaltenen antikomplementären Agens als Antigen-Antikörperkomplex sprechen könnte, wenn man der Auffassung von Friedberger und Pinczower¹⁾ folgt, daß der Antigen-Antikörperkomplex eine höhere Thermoresistenz besitzt als die einzelnen Komponenten an und für sich. Die ausgesprochene Thermolabilität des Präzipitates dürfte vielleicht verständlich sein, wenn man mit Friedemann u. a. annimmt, daß das Präzipitat bei der Präzipitinreaktion gar nicht die Antigen-Antikörperverbindung darstellt, sondern im wesentlichen aus den ausgefallenen Globulinen des Antiserums besteht. Die Tatsache der Thermolabilität des Präzipitates würde dann einfach in dem Sinn zu deuten sein, daß es sich um eine thermolabile antikomplementäre Globulinwirkung handelt. Ob daneben noch Antigen-Antikörperverbindungen im Präzipitat vorhanden sind, soll dahingestellt bleiben.

Uebrigens können meine orientierenden Versuche hierüber nur als kasuistischer Beitrag verwertet werden, und es dürfte von Interesse erscheinen, die durch Variationen der Mengenverhältnisse von Antigen und Antiserum erhaltenen verschiedenartigen Präzipitate systematisch auf Thermolabilität und sonstige Eigenschaften ihrer antikomplementären Funktion zu prüfen. Jedenfalls möchte ich es keineswegs ausschließen, daß bei Verwendung andersartiger Antisera oder bei Veränderung der quantitativen Bedingungen das Verhalten der Präzipitate mehr oder weniger weitgehende Schwankungen aufweisen kann. Für ein verschiedenes biologisch-physikalisches Verhalten von Präzipitaten dürften ja schon die älteren Erfahrungen, insbesondere die systematischen Untersuchungen

1) E. Friedberger und E. Pinczower, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 45, 1907, p. 352.

von E. Friedberger sprechen, denen zufolge es bei der Anaphylatoxinbildung durch Präzipitate auf die Einhaltung quantitativer Bedingungen ankommt und zwar anscheinend weit mehr, als bei der Anaphylatoxinbildung durch Bakterien und Suspensionen.

Zusammenfassung.

1) Durch Vorbehandlung von Meerschweinchenserum mit Salzsäure gelingt es, das Meerschweinchenserum so zu verändern, daß es im salzfreien Medium und durch Cobragift nicht mehr inaktiviert wird.

2) Der dafür maßgebende Einfluß der Salzsäure tritt gegenüber der Cobragiftwirkung bereits nach 10 Minuten ein.

3) Die Bedingungen entsprechen also denjenigen bei der Inaktivierung des Meerschweinchenserums durch gewisse Bakterien, unterscheiden sich nur darin, daß der auch für die Inaktivierung durch Bakterien gleichsinnig wirkende Einfluß der Natronlauge auf das Meerschweinchenserum bei der Inaktivierung durch Cobragift und im salzarmen Medium nicht oder nur angedeutet in Erscheinung tritt.

4) Das Uebereinstimmende bei den verschiedenartigen Inaktivierungsformen (durch Cobragift, durch Bakterien, im salzarmen Medium) ist darin zu erblicken, daß eine Abhängigkeit von der Serumkonzentration und von der willkürlich alterierbaren Serumbeschaffenheit besteht. Das hierfür maßgebende Moment ist der indirekte Wirkungsmechanismus, durch den die Inaktivierung des Komplements zustande kommt, und der durch eine primäre Globulinveränderung gekennzeichnet ist.

5) Die sogenannte „dritte Komponente“ ist im thermo-inaktiven Meerschweinchenserum resistent gegenüber der Inaktivierung durch Cobragift, Prodigiosusbacillen und salzarmes Medium. Als Ursache hierfür wird eine Stabilisierung der Globuline durch das Erhitzen angenommen.

Ebenso ergab sich, wie inzwischen auch Hirschfeld und Klinger mitgeteilt haben, daß die genannten Inaktivierungsformen durch Hypertonie des Mediums gehemmt werden.

6) Die sogenannte „dritte Komponente“ wird ebenso wie der nach Cobragifteinwirkung verbleibende Komplementrest durch Salzsäure und Natronlauge inaktiviert. Dabei ergaben sich Abhängigkeiten des Inaktivierungsgrades von der Serumkonzentration, die zu einer Umkehrung des Grades von Salzsäure- und Natronlauge Wirkung führen können.

7) Die Funktion des inaktiven Schweineserums, als „dritte Komponente“ zu wirken, wird durch Kaolin aufgehoben. Dabei wirkt Kaolin auf verdünntes Schweineserum erheblich stärker ein, als auf unverdünntes.

8) Die „dritte Komponente“ im Schweineserum wird durch Schütteln inaktiviert, wobei bei 100-facher Serumverdünnung ein Optimum besteht.

9) Die antikomplementäre Wirkung eines spezifisch hergestellten Präzipitates trat in der Wärme und Kälte gleich stark ein. Die Abhängigkeit von der Serumkonzentration erschien zahlenmäßig. Eine Aufhebung der Inaktivierbarkeit des Komplements durch Präzipitatwirkung nach Vorbehandlung des Meerschweinchen-serums mit Salzsäure und Natronlauge war nicht möglich.

10) Die antikomplementäre Präzipitatwirkung war durch eine außerordentliche Labilität gegenüber thermischen Einflüssen ausgezeichnet. Es dürfte dies der Auffassung entsprechen, daß das wirksame Agens der Präzipitate in der antikomplementären Kraft der in ihnen enthaltenen Globuline besteht. Es muß aber dahingestellt bleiben, ob andere, durch veränderte Mischungsverhältnisse bereitete Präzipitate sich ebenso verhalten.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Stellvertretender Direktor: Prof. H. Sachs).]

Ueber die Vermittelung hämolytischer Serumwirkungen durch Inulin.

Von **H. Sachs** und **E. Stilling**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. März 1917.)

Die Wirkung derjenigen Antikörper, die man als Ambozeptoren zusammenzufassen gewohnt ist, äußert sich in der Vermittelung der lytischen oder abtötenden Wirkung des Komplements, kann aber auch dadurch zum Ausdruck kommen, daß die Komplementfunktion durch ihre Wirkung zum Schwinden gebracht wird. Es können also unter den gleichen Bedingungen lytische und antikomplementäre Serumwirkungen zustande kommen. Aber auch für solche Faktoren, die in unspezifischer, bisher noch nicht hinreichend geklärter Weise die Komplementwirkung vermitteln, d. h. eine Hämolyse durch aktives Normalserum bewirken, scheint — wie es vor kurzem der eine von uns erörtert hat¹⁾ — ein ähnlicher Parallelismus zwischen hämolysevermittelnder und antikomplementärer Wirkung zu bestehen. Wenigstens ist man durch das salzarme Medium, durch kolloidale Kieselsäure (Landsteiner), durch Schlangengifte bis zu einem gewissen Grade imstande, einerseits eine hämolytische Wirkung des Meerschweinchenserums hervorzurufen, andererseits die Komplemente des Meerschweinchenserums zu inaktivieren. Setzt man nämlich aktivem Meerschweinchenserum im salzarmen Medium sofort Blut zu oder mischt rote Blutkörperchen mit kolloidaler Kieselsäure bzw. Cobragift und Meerschweinchenserum, so tritt Hämolyse ein. Fügt man aber die Blutkörperchen erst nach einer gewissen Zeit des Digerierens hinzu, so ist der Komplementgehalt des Meerschweinchenserums unter geeigneten Bedingungen verschwunden. Man kann — zumal

1) H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 52.

in Berücksichtigung der von Hirschfeld und Klinger¹⁾ gegebenen Erörterungen — geneigt sein, in allen diesen Fällen in dem Parallelismus zwischen antikomplementärer und die Komplementhämolysen vermittelnder Wirkung den Ausdruck einer ursächlichen Gesetzmäßigkeit zu sehen, und gelangt dann dazu, in der Fähigkeit der genannten Eingriffe, zu Eiweißfällungen bzw. zu Globulinveränderungen zu führen, das gemeinsame Band zu erblicken. •

Die Bedeutung, die eine solche Betrachtungsweise für das Verständnis derjenigen Serumwirkungen, die man dem Komplement zuschreibt, gewinnen kann, liegt auf der Hand. Wir haben uns daher bemüht, weitere Anhaltspunkte für die Berechtigung einer derartigen Auffassung zu gewinnen, und wenn wir auch bisher wiederum nur mit kasuistischen Beobachtungen zu der Frage beitragen können und unsere Ergebnisse gewissermaßen nur einen qualitativen Charakter besitzen, so glauben wir doch, daß das Phänomen, über das wir uns im folgenden kurz zu berichten erlauben, des Interesses nicht entbehren dürfte. Es handelt sich zwar um einen Fall, in dem es nicht mit der wünschenswerten Regelmäßigkeit gelang, die Hämolysen hervorzurufen, und in dem auch die Hämolysen nur partiell eintrat, der aber dadurch sein besonderes Gepräge erhält, daß es uns möglich war, in den positiven Versuchen die Abhängigkeit der Komplementhämolysen vermittelnden Wirkung von dem physikalischen Zustande der vermittelnden Substanz deutlich zu demonstrieren.

Wir haben nämlich als Mittel, um physikalisch auf aktives Meerschweinchenserum einzuwirken, das **Inulin** benutzt. Durch die leichte Möglichkeit, das Inulin durch kurzes Erwärmen seiner Aufschwemmung physikalisch zu verändern, ist es Sachs und Nathan²⁾ gelungen, eindeutig zu beweisen, daß die Umwandlung des Meerschweinchensersums zum Anaphylatoxin lediglich durch den physikalischen Einfluß des das

1) L. Hirschfeld und R. Klinger, diese Zeitschr., Bd. 21, 1914, p. 40; Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25.

2) H. Sachs und E. Nathan, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25; E. Nathan, diese Zeitschr., Bd. 23, 1914, p. 204.

Anaphylatoxin bildenden Agens zustande kommt. Es zeigte sich zugleich, daß auch die antikomplementäre Wirkung des Inulins vom physikalischen Zustande gleichsinnig abhängt. Nur die Inulinaufschwemmung ist im Sinne der Anaphylatoxinbildung und der antikomplementären Funktion biologisch wirksam, die Inulinlösung dagegen ist physikalisch und damit zugleich biologisch inert.

Von dem entwickelten Gedankengang aus erschien es nun von Interesse, zu untersuchen, ob die antikomplementär wirkende Inulinsuspension bei günstigen Versuchsbedingungen auch imstande ist, eine hämolytische Wirkung des aktiven Meerschweinchenserums zu vermitteln, und wenn dem so ist, ob dann nur der Inulinsuspension, nicht der Inulinlösung diese hämolysevermittelnde Fähigkeit zukommt. Man darf sich die Schwierigkeiten eines derartigen Versuches von vornherein nicht verhehlen. Denn wenn überhaupt antikomplementär wirkende Stoffe — so paradox das zunächst erscheinen mag — auch die Komplementwirkung auf die Zellen zu übertragen in der Lage sind, so wird der Nachweis dieser Fähigkeit mehr oder weniger vom Zufall abhängen, da es sich ja hier um zwei Funktionen (antikomplementäre und hämolysevermittelnde Wirkung) handelt, deren Ausdrucksformen zu den entgegengesetzten Ergebnissen führen müssen.

Trotzdem ist uns die Vermittlung einer Hämolyse durch das Zusammenwirken von Inulinaufschwemmung und aktivem Meerschweinchen-serum bis zu einem gewissen Grade gelungen. Wir gingen dabei in folgender Weise vor.

Absteigende Mengen einer 4-fach verdünnten 5-proz. Inulinsuspension (Inulin Dragendorff-Merck) wurden mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung unter Zusatz von

- a) je 0,075 ccm aktiven Meerschweinchenserums,
- b) je 0,075 ccm inaktiven Meerschweinchenserums im Brutschrank digeriert.

Zugleich wurde eine Inulinlösung derart bereitet, daß die 5-proz. Inulinsuspension im Wasserbade von 70° wenige Minuten erhitzt wurde. Absteigende Mengen dieser Inulinlösung wurden in Reihe

- c) mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung unter Zusatz von je 0,075 ccm aktiven Meerschweinchenserums digeriert.

Die eingetretene Hämolyse zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

Mengen des 5-proz. Inulins $\frac{1}{4}$ ccm	Hämolyse von Hammelblut durch		
	absteigende Mengen Inulinsuspension und je 0,075 ccm Meerschweinchen- serum, letzteres	Inulinlösung und je 0,075 ccm Meerschweinchen- serum	
	a) aktiv	b) inaktiv	c) aktiv
1,0	wenig	0	0
0,5	„	0	0
0,25	mäßig	0	0
0,15	stark	0	0
0,1	„	0	0
0,05	mäßig	0	0
0,025	„	0	0
0,015	wenig	0	0
0,01	Spur	0	0
0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, tritt unter dem Einfluß der Inulinsuspension durch aktives Meerschweinchen-serum (Spalte a) Hämolyse ein. Sie wird zwar nicht komplett. Daß es sich aber hier um eine hämolytische Wirkung, bedingt durch das Zusammenwirken zweier Komponenten (Inulinsuspension und aktives Meerschweinchen-serum) handelt, zeigt ein Vergleich der Spalte a mit den Spalten b und c. Die Hämolyse bleibt nämlich sowohl dann aus, wenn das aktive Meerschweinchen-serum durch inaktiviertes Meerschweinchen-serum ersetzt wird, als auch dann, wenn aktives Meerschweinchen-serum und Inulinlösung zusammenwirken. Es handelt sich also zweifellos um eine physikalische Wirkung des Inulins, durch die die hämolytische Wirkung des aktiven Serums auf die Hammelblutkörperchen übertragen wird. Trotz zahlreicher Bemühungen ist es uns jedoch nicht gelungen, eine vollständige Hämolyse zu erzielen. Wenn man allerdings berücksichtigt, daß das Inulin eben zugleich anti-komplementär wirkt, wie sich das aus den ersten Gliedern der Spalte a der Tabelle ergibt, so darf es nicht überraschen, daß die Hämolyse nicht vollständig wird. Antikomplementäre und hämolysevermittelnde Wirkung bedingen eben eine Resultante, bei der die antikomplementäre Funktion einen starken Grad der hämolytischen Wirkung augenscheinlich nicht erlaubt.

Dementsprechend erscheint die Hämolyse durch Inulin und Meerschweinchenserum auch erheblich abgeschwächt, wenn die beiden Komponenten vor dem Blutzusatz digeriert werden. Das folgende Versuchsbeispiel, das hierüber berichtet, zeigt zu gleicher Zeit, daß die antikomplementäre Inulinwirkung nur bei höherer Temperatur, nicht bei 0° in Erscheinung tritt.

Absteigende Mengen aktiven Meerschweinchenserums werden

a) mit je 0,15 ccm 1,25-proz. Inulinsuspension 1 Stunde bei 37°,

b) mit je 0,15 ccm 1,25-proz. Inulinsuspension 1 Stunde bei 0° digeriert.

Sodann erfolgt Zusatz von je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung.

Zur Kontrolle werden absteigende Mengen aktiven Meerschweinchenserums

c) mit je 0,15 ccm 1,25-proz. Inulinsuspension und 1 ccm Hammelblutaufschwemmung sofort gemischt,

d) (ohne Inulinzusatz) mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert.

Das Ergebnis zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Mengen des 5-fach ver- dünnten Meerschwein- chenserums ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen Meer- schweinchenserums			
	nach vorherigem Digerieren des letzteren mit Inulin		c) unter Zu- satz von Inulin	d) ohne weiteren Zusatz
	a) bei 37°	b) bei 0°		
1,0	Spürchen	mäßig bis stark	mäßig bis stark	Spürchen
0,5	"	mäßig	mäßig	0
0,25	Spur	wenig	wenig	0
0,15	Spürchen	Spur	Spur	0
0,1	"	Spürchen	Spürchen	0
0	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß bei zuvorigem Digerieren von Inulin und Meerschweinchenserum und erst später folgendem Blutzusatz die antikomplementäre Wirkung des Inulins deutlich zum Vorschein kommt. Es ist dabei von Interesse, daß der stärkste Grad der antikomplementären Wirkung den

größten Mengen Meerschweinchenserums zu entsprechen scheint, ein Verhalten, das nach den Arbeiten von Sachs und Omorokow¹⁾ auch für die antikomplementäre Wirkung des Cobragiftes, nach den Untersuchungen von Ritz und Sachs²⁾ auch für die antikomplementäre Wirkung der Prodigiosusbacillen gilt. Man erhält so — wenigstens in Andeutung — eine zunächst paradox erscheinende Reihe, wie sie zuerst Braun³⁾ beim Cobragift beschrieben hat. Die einheitliche Ursache ist nach den Arbeiten von Sachs und seinen Mitarbeitern darin zu erblicken, daß das antikomplementäre Agens indirekt wirkt und primär zu einer Globulinveränderung führt. Auch insofern gleicht der Typus der antikomplementären Inulinwirkung dem Verhalten der Komplementinaktivierung durch Cobragift und Prodigiosusbacillen, als die antikomplementäre Wirkung nur bei 37°, nicht bei 0° auftritt. Bei zuvorigem Digerieren von Inulin und Meerschweinchenserum bei 0° erscheint daher, wie die Spalte b in Tabelle II zeigt, die Hämolyse nicht abgeschwächt, zuweilen sogar etwas verstärkt. Jedoch sind bei dem nur partiellen Grad, den die Hämolyse erreicht, die Bedingungen nicht immer so klar, wie in dem mitgeteilten Versuchsbeispiel, zu übersehen gewesen. Wir möchten daher in bezug auf verallgemeinernde Schlußfolgerungen vorsichtig sein, können aber jedenfalls als Ergebnis zahlreicher Parallelversuche feststellen, daß die antikomplementäre Inulinwirkung unter den hier eingehaltenen Versuchsbedingungen nur bei 37°, nicht bei 0° zum Vorschein kommt.

Was nun die Art des Zusammenwirkens von Inulin und Meerschweinchenserum bei der Hämolyse anlangt, so beweist ja die Tatsache, daß nur Inulinsuspension, nicht Inulinlösung zur Vermittelung der Hämolyse geeignet ist, zweifellos die

1) L. Omorokow, diese Zeitschr., Bd. 10, 1911, p. 285; H. Sachs und L. Omorokow, ebenda, Bd. 11, 1911, p. 710.

2) H. Ritz und H. Sachs, Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, 1911, I. Abt., Beiheft, und diese Zeitschr., dieses Heft.

3) H. Braun, Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, p. 65.

Abhängigkeit des Vorgangs von der physikalischen Beschaffenheit, in der sich das Inulin befindet. Auf die gleiche Ursache dürfte auch die Tatsache zu beziehen sein, daß sich uns nicht alle Inulinpräparate als gleichwertig zum Hervorrufen der Erscheinung erwiesen haben. So war das von Merck bezogene Präparat deutlich wirksamer, als das Kahlbaum'sche Inulin, wenngleich auch durch letzteres in fast allen Fällen eine mehr oder weniger geringgradige hämolytische Wirkung des Meerschweinchenserums ausgelöst werden konnte.

Eine andere Frage ist die, ob das Inulin lediglich eine Vermittelung der Komplementwirkung bedingt, oder ob durch das Inulin nur eine Ambozeptor-Komplementhämolysen verstärkt wird. Das Meerschweinchenserum enthält ja in mehr oder weniger geringem Grade normale Ambozeptoren für Hammelblut. Wenn wir uns nun auch überzeugen konnten, daß in zahlreichen Versuchen der Normalambozeptorgehalt nicht zur Hämolysen ausreichte, so wäre es doch immerhin denkbar, daß das Inulin bei solch niedrigem Ambozeptorgehalt, der unter dem Schwellenwert der biologisch nachweisbaren Ambozeptormenge bleibt, zu einer Verstärkung der sonst nicht sichtbar werdenden Wirkung führt. Wir haben deshalb auch das Verhalten des Inulins gegenüber Meerschweinchenblut und Meerschweinchenserum geprüft und haben auch bei dieser Kombination in vielen, wenn auch nicht in allen Versuchen deutliche Hämolysen hervorrufen können, wenn sie auch die bei Verwendung von Hammelblut erzielten Grade nicht erreicht. Es sei zunächst hierfür ein Versuchsbeispiel angeführt.

Absteigende Mengen einer 4-fach verdünnten 5-proz. Inulinsuspension (Inulin Dragendorff-Merck) wurden mit je 1 ccm Meerschweinchenblutaufschwemmung unter Zusatz von

a) je 0,1 ccm aktiven Meerschweinchenserums.

b) je 0,1 ccm inaktiven Meerschweinchenserums im Brutschrank digeriert.

Zur Kontrolle wurden

c) absteigende Mengen einer 5-proz. Inulinlösung unter Zusatz von je 0,1 ccm aktiven Meerschweinchenserums mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert.

Die eingetretene Hämolysen zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Mengen des 5-proz. Inulins $\frac{1}{4}$ ccm	Hämolyse von Meerschweinchenblut durch		
	absteigende Mengen Inulinsuspension und 0,1 ccm Meerschweinchen- serum		c) Inulinlösung und 0,1 ccm Meer- schweinchenserum aktiv
	a) aktiv	b) inaktiv	
1,0	Spürchen	0	0
0,5	"	0	0
0,25	Spur	0	0
0,15	wenig	0	0
0,1	Spur	0	0
0,05	Spürchen	0	0
0,025	"	0	0
0,015	0	0	0
0,01	0	0	0
0	0	0	0

Die Tabelle zeigt, daß immerhin ein gewisser Grad von hämolytischer Wirkung auch beim Zusammenwirken von Inulin mit Meerschweinchenserum und Meerschweinchenblut zu beobachten ist. Auch hier zeigt sich, daß das Optimum der Hämolyse nicht bei den größten Inulindosen, sondern bei den mittleren gelegen ist. Man muß sich aber wohl bewußt sein, daß es sich in quantitativer Hinsicht um ein ungünstigeres Ergebnis handelt, als bei Verwendung von Hammelblut. Wenn man auch dabei den Umstand berücksichtigen darf, daß die Komplementhämolyse des Meerschweinchenblutes im allgemeinen mit geringerer Intensität verläuft, als die des Hammelblutes, so wird man immerhin den Einwand machen können, daß auch das Meerschweinchenserum Ambozeptoren (Isoambozeptoren) für die arteigenen Blutkörperchen enthalten könnte. Wir möchten daher nicht ohne weiteres aus der Tatsache, daß auch eine gewisse Hämolyse des Meerschweinchenblutes durch das Zusammenwirken von Inulin und Meerschweinchenserum zu erzielen war, den Schluß ziehen, daß hierbei im Meerschweinchenserum lediglich dessen Komplementgehalt in Betracht kommt.

Andererseits kann es nicht wundernehmen, daß die Inulinsuspension, da sie ja an und für sich imstande ist, die Hämolyse von Hammelblut durch Meerschweinchenkomplement zu vermitteln, auch zu einer Beschleunigung und Verstärkung der Ambozeptor-Komplementhämolyse führt.

Absteigende Mengen 5-proz. Inulinsuspension Merck wurden mit je 0,0004 ccm Hammelblutambozeptor (entsprechend einer halben Ambozeptor-einheit) und je 0,5 ccm Hammelblutaufschwemmung unter Zusatz von je 0,05 ccm Meerschweinchenserum (Gesamtvolumen 1,4 ccm) im Brutschrank gehalten.

Die nach 20, 50, 90 Minuten und nach 24 Stunden eingetretene Hämolyse zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Mengen der 5-proz. Inulin- suspension $\frac{1}{5}$ ccm	Hämolyse von Hammelblut durch je 0,0004 ccm Ambozeptor und je 0,05 ccm Meerschweinchenserum unter Zusatz ab- steigender Mengen Inulinsuspension nach:			
	a) 20 Minuten	b) 50 Minuten	c) 90 Minuten	d) 24 Stunden
0,5	0	Spur	wenig	wenig
0,25	0	wenig	mäßig	stark
0,15	0	mäßig	stark	fast komplett
0,1	Spürchen	"	"	komplett
0,05	Spur bis wenig	komplett	komplett	"
0,025	Spürchen	stark	fast komplett	"
0,015	0	wenig	stark	"
0,01	0	Spur	mäßig	fast komplett
0	0	0	Spürchen	Spur bis wenig

Aus der Tabelle ergibt sich, daß es in diesem Falle möglich war, durch Inulinzusatz vollständige Hämolyse zu erzielen bei Dosen von Ambozeptor und Komplement, die an und für sich nur zu einer partiellen Hämolyse führen. Bei geeigneter Inulindosis erfolgt das bereits zu einer Zeit, zu der Ambozeptor und Komplement noch ohne nachweisbare Wirkung sind. Aber auch hier zeigt sich, daß die beschleunigende und verstärkende Wirkung ihr Optimum bei mittleren Inulinmengen hat, da eben ein Inulinüberschuß durch den antagonistischen Einfluß der antikomplementären Wirkung die Hämolyse hemmt.

Mit geringeren Dosen, als etwa der halben Ambozeptor-einheit, ist es uns aber nicht gelungen, durch Inulinzusatz eine vollständige Hämolyse zu erzielen. Man kann daher die Tatsache der Beschleunigung und Verstärkung der Ambozeptor-Komplementhämolyse durch Inulin wohl auf eine Summation beider hämolysevermittelnden Faktoren (des Ambozeptors und des Inulins) zurückführen. Wie dem aber auch sei, von wesentlicher Bedeutung für die Auffassung der von uns erhobenen Befunde würde es unseres Erachtens nicht sein, ob

man die durch Inulin vermittelte Hämolyse auf reine Komplementwirkung bezieht oder eine Beteiligung von Ambozeptoren annehmen will. Die Erörterung dieser Frage ist heute um so schwieriger, als sich ja in der Auffassung des Komplements Änderungen vollzogen haben und noch vollziehen, die eine scharfe Definition des Komplementbegriffes heute mehr denn je erschweren. Wir können uns daher, ohne daß unsere Befunde dadurch weniger Interesse beanspruchen dürften, mit der Feststellung begnügen, daß es uns gelungen ist, durch Inulin eine hämolytische Wirkung des aktiven, als Komplementquelle erprobten Meerschweinchenserums zu bewirken, und daß hierbei der physikalische Zustand des Inulins von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Es verdient gewiß Beachtung, daß die gleichen Unterschiede, die sich in bezug auf die hämolysevermittelnde Rolle des Inulins geltend machen, auch für dessen antikomplementäre Wirkung und die Fähigkeit, Meerschweinchenserum zum Anaphylatoxin umzubilden, bestehen. Einen ursächlichen Zusammenhang für die Gleichheit der Erscheinungen anzunehmen, liegt daher immerhin nahe. Es entspricht nun wohl der in letzter Zeit vielfach vertretenen Auffassung¹⁾, daß es sich beim Inulin, wie bei der Wirkung anderer Suspensionen, auch des Cobragiftes usw. auf aktives Meerschweinchenserum (vgl. auch Hirschfeld und Klinger, P. Schmidt) um Fällungen oder Vorstufen von Fällungen handelt, die man im Sinne einer Dispersitätsverringerung der Globuline auffaßt.

Man könnte nun freilich, wenn man sich der Arbeiten von Gengou²⁾, Friedberger und Kumagai³⁾ über die Hämolyse durch anorganische Suspensionen erinnert, der Auffassung zuneigen, daß die durch Inulin vermittelte Hämolyse gewissermaßen auch grob-mechanischer Natur wäre.

Dabei ist es freilich unwahrscheinlich, daß die Inulinsuspension als solche als hämolytisches Agens in Betracht kommt. Wir haben zwar gelegentlich Inulinsuspensionen in Händen gehabt, die Meerschweinchen-

1) Vgl. hierzu die Arbeit von H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 52; siehe daselbst die einschlägige Literatur.

2) O. Gengou, Compt. rend. Acad. Scienc., T. 138, 1906.

3) E. Friedberger und T. Kumagai, diese Zeitschr., Bd. 13, 1912, p. 127.

blut ohne weiteren Zusatz geringgradig zu lösen imstande waren. In dem Sinne, daß eine solche hämolytische Wirkung der Inulinsuspension mit der Hämolyse durch Kaolin vergleichbar ist, ist wohl die dabei gleichfalls von uns beobachtete, des Interesses nicht entbehrende Erscheinung zu deuten, daß auch diese geringgradige hämolytische Wirkung der Inulinsuspension erlischt, wenn das Inulin durch kurzes Erhitzen in den gelösten Zustand übergeführt wird. Dagegen aber, daß es sich bei der Hämolyse durch Inulin und aktives Meerschweinchenserum um eine einfach verstärkte hämolytische Wirkung des Inulins handeln könnte, spricht der Umstand, daß die mechanische Kaolinhämolyse ja durch Serum gerade gehemmt wird, sich also umgekehrt verhält.

Man müßte sich den Vorgang dann derart vorstellen, daß die Fällungen, die durch das Zusammenwirken von Inulinsuspension mit aktivem Meerschweinchenserum entstehen, das hämolytische Agens darstellten. Auch eine solche Annahme würde daher die Tatsache bestehen lassen, daß die von uns nachgewiesene hämolytische Wirkung an den aktiven Zustand des Meerschweinchensersums gebunden ist; denn mit inaktivem Meerschweinchenserum bleibt ja die durch Inulin vermittelte Hämolyse aus. In jedem Falle darf also der Gedanke naheliegen, daß die Hämolyse, die hier durch aktives Meerschweinchenserum erzielt wird, in einem Zusammenhang steht mit der ja gleichfalls an die Aktivität des Serums gebundenen Komplementwirkung. Wenn man andere Erfahrungen über Vermittelung der hämolytischen Serumwirkung durch kolloidale Kieselsäure, Cobragift und das salzarme Medium berücksichtigt, so kann man, wie das der eine von uns (Sachs) bereits ausgeführt hat, geneigt sein, anzunehmen, daß „solche Stoffe, die auf das aktive Serum im Sinne einer Globulinveränderung bestimmten Grades wirken, bzw. zu einer Verminderung der Dispersität führen, einerseits die Komplementwirkung aufheben, andererseits aber, wenn zugleich rote Blutkörperchen vorhanden sind, die Komplementwirkung auf dieselben vermitteln können.“

Aehnlichkeiten der Erscheinung bei der Hämolyse durch Meerschweinchenserum und Cobragift bzw. Kieselsäure einerseits, Inulin andererseits sind wohl jedenfalls vorhanden. Freilich sind wir uns bewußt, daß unsere Befunde einen erheblichen quantitativen Unterschied aufweisen, da uns eine vollständige Hämolyse durch das Zusammenwirken von Inulin

und Meerschweinchenserum nicht zu erzielen gelungen ist. Es ist aber wohl denkbar, daß auch die Ursachen für dies abweichende Verhalten nur quantitativer Art sind. Gerade bei der Kieselsäurehämolysen hängt ja das Ergebnis, wie schon aus den grundlegenden Arbeiten Landsteiners bekannt ist, weitgehend von Herstellungsart und physikalischer Beschaffenheit der kolloidalen Kieselsäure ab. Daß auch bei den einzelnen Inulinpräparaten Verschiedenheiten bestehen, zeigt das bereits erwähnte quantitativ differierende Verhalten des Inulins Merck und des Inulins Kahlbaum. Es ist daher wohl möglich, daß auch das von uns benutzte Inulin Merck noch keine optimalen Bedingungen für die physikalisch vermittelte Hämolysen bietet.

Man wird sich auch bei der Erprobung anderer Stoffe im gleichen Sinne bewußt sein müssen, daß eine etwa zu vermittelnde hämolytische Wirkung einerseits von der physikalischen Beschaffenheit, andererseits von der Interferenz der antikomplementären Wirkung beeinflußt werden kann. In einigen orientierenden Versuchen, in denen wir Agar und Stärke heranzogen, ist uns bisher ein Nachweis von hämolysenvermittelnder Wirkung nicht gelungen. Bei der Erprobung von Aufschwemmungen von *Prodigiosus*-Bacillen konnten wir keine eindeutigen Ergebnisse erhalten. Die von uns benutzten *Prodigiosus*-Bacillen-Aufschwemmungen wirkten nämlich an und für sich mehr oder weniger stark hämolytisch (dabei die bei Zimmertemperatur gewachsenen roten Kulturen stärker, als die weißen Brutschrankkulturen). Durch Zusatz von Meerschweinchenserum war eine erhebliche Verstärkung der Hämolysen zu erzielen. Sie trat aber auch bei Verwendung von inaktiviertem Meerschweinchenserum ein, ein Befund, der vielleicht Beachtung verdient, aber eine Antwort auf unsere Fragestellung zunächst ausschließen mußte.

Was die Beziehungen der durch Inulin vermittelten Hämolysen des aktiven Meerschweinchenserums zu der Ambozeptor-Komplementhämolysen anlangt, so möchten wir uns damit begnügen, auf die Ausführungen in der bereits erwähnten Arbeit von Sachs (l. c.) zu verweisen. Es erscheint nicht

ausgeschlossen, daß auch die durch spezifische Ambozeptorwirkung vermittelte Komplementhämolyse durch einen physikalischen Einfluß des Komplexes Zelle-Ambozeptor auf das aktive Meerschweinchenserum eingeleitet wird. Jedoch reichen diese Betrachtungen vorläufig zu sicheren Schlußfolgerungen nicht hin. Es wird Aufgabe der weiteren Forschung sein, von diesem Gesichtspunkt aus in das Wesen der Komplementwirkung etwas weiter einzudringen zu versuchen.

Erwähnt sei, daß manche ältere Erfahrungen über Beschleunigung und Verstärkung der Ambozeptor-Komplementhämolyse, die bisher dem Verständnis schwer zugänglich waren, vielleicht im Wesen der von uns aufgefundenen Hämolyse durch das Zusammenwirken von Inulinsuspension und aktivem Meerschweinchenserum entsprechen. Ganz besonders muß aber hier die von Sasaki¹⁾ beschriebene Erscheinung der Aktivierung der hämolytischen Wirkung des Meerschweinchensersums durch Aminosäuren hervorgehoben werden. Es handelt sich hier um eine Hämolyse durch das Zusammenwirken von Alanin und Meerschweinchenserum, die in mancher Hinsicht auch durch eine gewisse antikomplementäre Wirkung des Alanins unseren Beobachtungen zu entsprechen scheint und ihnen vielleicht auch innerlich verwandt ist. In die gleiche Gruppe von Erscheinungen dürften auch die neueren Beobachtungen von A. und L. Lampé²⁾ gehören, nach denen Peptone je nach den Mengenverhältnissen antikomplementär oder „aktivierend“ auf die Hämolyse wirken können.

Schließlich sind die von uns mitgeteilten Beobachtungen und Erörterungen vielleicht auch insofern von Interesse, als sie die Möglichkeit bieten, bei Formen der Hämolyse und Hämoglobinurie unter pathologischen Einflüssen nach entsprechenden ursächlichen Zusammenhängen zu suchen. Wenn es, wie es unsere Versuche zeigen, möglich ist, durch physikalische Einflüsse eine hämolytische Serumwirkung auszulösen, so könnten auch in vivo physikalische Zustandsänderungen unter Umständen zu hämolytischen Wirkungen führen. Vielleicht könnte eine in dieser Richtung vorgenommene Analyse

1) T. Sasaki, Biochem. Zeitschr., Bd. 16, 1909, p. 71.

2) A. E. Lampé und L. A. Lampé, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 119, 1916, p. 113.

dazu beitragen, das Wesen der paroxysmalen Hämoglobinurie weiter aufzuklären. Durch die Versuche von Donath und Landsteiner sind ja hier grundlegende Tatsachen entdeckt worden. Immerhin stellt aber die Annahme eines Ambozeptors, der nur in der Kälte gebunden wird, eine Ausnahme gegenüber dem Verhalten der Ambozeptoren im allgemeinen dar. Dagegen bietet die Berücksichtigung einer Mitwirkung physikalischer Einflüsse möglicherweise neue Handhaben zum Verständnis der Bedeutung der Temperaturänderung. Versuche, die wir in dieser Richtung ausführten, haben einige Male eine geringe Verstärkung der durch Inulin vermittelten Hämolyse durch vorheriges Digerieren in der Kälte ergeben. Sie erlauben aber vorläufig keineswegs bestimmte Folgerungen.

Zusammenfassung.

1) Durch das Zusammenwirken von Inulin und Meer-schweinchenserum gelingt es, hämolytische Wirkungen zu erzielen.

2) Die Hämolyse durch das Zusammenwirken von Inulin und Meerschweinchenserum ist an den aktiven Zustand des Serums gebunden. Bei Verwendung inaktivierten Meer-schweinchenserums bleibt die Hämolyse aus.

3) Die durch das Zusammenwirken von Inulin und Meer-schweinchenserum entstehende Hämolyse ist an den physikalischen Zustand des Inulins gebunden. Die Hämolyse ist nur mit Inulinsuspension, nicht mit Inulinlösung zu erzielen.

4) Die durch das Zusammenwirken von Ambozeptor und Komplement vermittelte Hämolyse erfährt durch Zusatz von Inulinsuspension eine Beschleunigung und geringgradige Verstärkung.

5) Der Mechanismus der durch das Zusammenwirken von Inulinsuspension und Meerschweinchenserum entstehenden Hämolyse wird erörtert, insbesondere in bezug auf die Möglichkeit, daß

a) das Inulin nur die Wirkung von Normalambozeptoren verstärkt;

b) die durch Einwirkung des Inulins auf das aktive Meer-schweinchenserum entstehenden Fällungen das hämolytische Agens sind;

c) durch den physikalischen Einfluß, den die Inulinsuspension auf das aktive Meerschweinchenserum ausübt, die gewissermaßen potentiell vorhandene hämolytische Kraft, die man als Komplementwirkung bezeichnet, manifest wird.

In letzterem Falle ergeben sich Ausblicke auf das Wesen der Komplementwirkung. Die ambozeptorbeladene Zelle würde dann zugleich als physikalisches Mittel erscheinen, um die lytische Wirkung des als Komplement fungierenden Serums einzuleiten.

Nachtrag während der Korrektur.

Inzwischen haben wir auch bei Verwendung von Ricin in vorläufigen Versuchen analoge Ergebnisse wie mit Inulinsuspension erhalten. In geeigneten Mengen bewirkte **Ricin** im Verein mit aktivem, aber nicht mit inaktivem Meerschweinchenserum die Hämolyse von Hammelblut und Kaninchenblut. Freilich war auch hierbei die Hämolyse meist unvollständig und aus bisher nicht näher zu bestimmenden Ursachen nicht regelmäßig nachweisbar. Nach zuvorigem Digerieren von Ricin und aktivem Meerschweinchenserum bei 37° vor dem Blutzusatz machte sich eine antikomplementäre Ricinwirkung durch das Ausbleiben der Hämolysevermittlung bemerkbar.

Es darf in diesem Zusammenhang vielleicht erwähnt werden, daß wir bei Serum-Präzipitationsversuchen mit Ricin (Jacoby, Kraus, Michaelis und Steindorff) in der Regel eine mehr oder minder erhebliche Abnahme der Präzipitationswirkung durch Inaktivierung des Serums beobachten konnten. Wir benutzten für diese bisher nicht zahlreichen Versuche Menschen Serum und Meerschweinchenserum und sahen übereinstimmend, daß aktives Serum durch mehr oder weniger erheblich geringere Ricinmengen präzipitiert wurde, als das durch halbstündiges Erhitzen auf 55° inaktivierte. Es dürfte das dafür sprechen, daß auch die Präzipitation des Serums durch Ricin in gewissem Grade an eine Labilität der Serumbeschaffenheit gebunden ist, die eben durch das Inaktivieren eine Stabilisierung erfährt.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: weiland Wirklicher Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Ueber die immunisatorische Erzeugung und Bindung hämolytischer Ambozeptoren durch die Organe des Meerschweinchens.

Von Dr. W. Georgi und Dr. A. Seitz.

Mit 1 Figur im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. März 1917.)

Durch die Untersuchungen von Forssman¹⁾ ist ein Forschungsgebiet von eigenartigem Reiz erschlossen worden. Es ergab sich die interessante Tatsache, daß die Organe des Meerschweinchens, des Pferdes und anderer Tierarten in ungeahnter Weise imstande sind, bei Kaninchen die Bildung von hochwertigen Hammelblutambozeptoren zu erzeugen. Wenn auch durch die Rezeptorenlehre P. Ehrlichs die bei dem Immunisierungsprozeß wirkende biologische Einheit eine neuartige glückliche Definition gefunden hatte, die von der Spezifität im morphologischen oder systematisch-zoologischen Sinne völlig abstrahierte, so war man doch gewohnt, Rezeptorgemeinschaften stärkeren Grades nur bei einigermaßen nahe verwandten Tieren anzunehmen. Seit den Untersuchungen Forssmans wissen wir aber, daß auch die Organe weit entfernt stehender Tierarten in regellos erscheinender Verteilung starke immunisatorische Fähigkeiten mit den Hammelblutkörperchen (bzw. Ziegenblutkörperchen) teilen können.

Die Angaben von Forssman sind von zahlreichen Autoren bestätigt und erweitert worden. Es mag genügen, auf die Arbeiten von Orudschiew²⁾, Forssman und

1) J. Forssman, Biochem. Zeitschr., Bd. 37, 1911, p. 78.

2) D. Orudschiew, diese Zeitschr., Bd. 16, 1913, p. 268.

Hintze¹⁾, Rothacker²⁾, Doerr und Pick³⁾, Amako⁴⁾, Morgenroth⁵⁾, Friedberger und Schiff⁶⁾, Bail und Margulies⁷⁾, Sachs und Nathan⁸⁾, Sachs und Georgi⁹⁾, Spät¹⁰⁾, Weil¹¹⁾, Pick¹²⁾, Tsuneoka¹³⁾, Amako¹⁴⁾, Forssman und Fex¹⁵⁾, Morgenroth und Bieling¹⁶⁾, Forssman¹⁷⁾ u. a. hinzuweisen¹⁸⁾. Sie alle haben zu einer wesentlichen Erweiterung und Vertiefung des Gebietes beigetragen.

Die Schwierigkeiten der Auffassung, die zunächst diese Befunde dem Verständnis bereitet haben mochten, wurden durch die aus dem hiesigen Institut hervorgegangene Arbeit von Orudschiew beseitigt. Orudschiew konnte nämlich zeigen, daß die vorliegenden Verhältnisse eine eindeutige Aufklärung erfahren durch die Anwendung des von Ehrlich und Morgenroth begründeten Prinzips der Vielheit von Rezeptoren und Ambozeptoren, das ja einen wesentlichen Bestandteil von Ehrlichs Rezeptorkonzeption bildet. Man hat, wie das von Orudschiew ausgeführt wurde,

1) J. Forssman und A. Hintze, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 44, 1912, p. 336.

2) A. Rothacker, *diese Zeitschr.*, Bd. 16, 1913, p. 491.

3) R. Doerr und R. Pick, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 50, 1913, p. 129; Bd. 60, 1914, p. 257; *diese Zeitschr.*, Bd. 19, 1913, p. 251.

4) T. Amako, *Zeitschr. f. Chemotherap.*, Bd. 1, 1913, p. 224.

5) J. Morgenroth, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1913, No. 12.

6) E. Friedberger und F. Schiff, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1913, No. 34 und 50 (vgl. auch *diese Zeitschr.*, Bd. 18, 1913, p. 269); F. Schiff, *diese Zeitschr.*, Bd. 20, 1914, p. 336.

7) O. Bail und A. Margulies, *diese Zeitschr.*, Bd. 19, 1913, p. 185.

8) H. Sachs und E. Nathan, *diese Zeitschr.*, Bd. 19, 1913, p. 235.

9) H. Sachs und W. Georgi, *diese Zeitschr.*, Bd. 21, 1914, p. 342.

10) W. Spät, *diese Zeitschr.*, Bd. 21, 1914, p. 565.

11) E. Weil, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 58, 1914, p. 257.

12) R. Pick, *Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig.*, Bd. 70, 1913, p. 435.

13) R. Tsuneoka, *diese Zeitschr.*, Bd. 22, 1914, p. 567.

14) T. Amako, *diese Zeitschr.*, Bd. 22, 1914, p. 641.

15) J. Forssman und J. Fex, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 61, 1914, p. 6.

16) J. Morgenroth und R. Bieling, *ebenda*, Bd. 68, 1915, p. 85.

17) J. Forssman, *ebenda*, Bd. 77, 1916, p. 104.

18) Anmerkung während der Korrektur: Vgl. auch die inzwischen erschienene Arbeit von U. Friedemann, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 80, 1917, p. 333.

nur nötig, anzunehmen, „daß die Hammelblutkörperchen über zwei große Rezeptorenfraktionen A und B verfügen, welche wiederum aus einer großen Anzahl von Partialrezeptoren bestehen, daß aber die Meerschweinchenzellen nur Vertreter der Fraktion A besitzen“. Es ergibt sich daher, daß Meerschweinchen-Antisera, soweit sie auf Hammelblut hämolytisch wirken, einfacher zusammengesetzt sind, als die Hammelblutantisera, die eben gleichzeitig Ambozeptoren gegen die Rezeptorfraktionen A und B besitzen.

Die Rezeptorkomponente A, die den Organen verschiedener Tierarten und dem Hammelblut gemeinsam ist, ist, wie Doerr und Pick gezeigt haben, kochbeständig (vgl. auch Sachs und Nathan) und gegen Alkohol widerstandsfähig (bzw. durch Alkohol extrahierbar; vgl. Friedberger und Schiff, Sachs und Georgi), also auch durch physikalisch-chemische Mittel unterscheidbar. Sachs und Georgi sind durch die strukturelle Betrachtung im Sinne Ehrlichs zu einer in praktischer Hinsicht bemerkenswerten Konsequenz gelangt. Sie haben nämlich den Nachweis dieser Rezeptoren durch ihr Ambozeptorbindungsvermögen zur Erkennung von Pferdefleisch benutzt, da diese Rezeptoren an den Organbestandteilen der für den Nachweis von Fleischverfälschungen hauptsächlich differentialdiagnostisch in Betracht kommenden Tierarten (Rind, Schwein, Hammel und Ziege) fehlen. Dabei kommt die Kochbeständigkeit dieser Pferdefleischrezeptoren gut zustatten, da sie den Nachweis von Pferdefleisch auch dann noch erlaubt, wenn die Präzipitinreaktion wegen der Kockolabilität der präzipitablen Komponenten bereits versagt. Das Verfahren erscheint daher als Hilfsmittel zum Pferdefleischnachweis auf wissenschaftlicher Grundlage durchaus empfehlenswert. Neuere Untersuchungen von Bauer¹⁾ haben die Angaben von Sachs und Georgi vollständig bestätigt und zu dem Schlusse geführt, daß die Sachs-Georgische Methode „die einzige ist, die bei gekochtem Material verlässlichen Aufschluß gibt“.

1) J. Bauer, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene, 27. Jahrg., 1917, Heft 7, p. 97.

Die Rezeptorenlehre P. Ehrlichs hat sich also auch bei der Analyse der hier in Betracht kommenden Verhältnisse als erklärendes Prinzip und als heuristischer Pfadfinder aufs beste bewährt. Die Pluralität der Rezeptoren und Ambozeptoren bzw. das Prinzip der partiellen Rezeptorgemeinschaft sind durchaus befähigt, die Tatsache des Uebergreifens der Antikörperwirkungen dem Verständnis zugänglich zu machen.

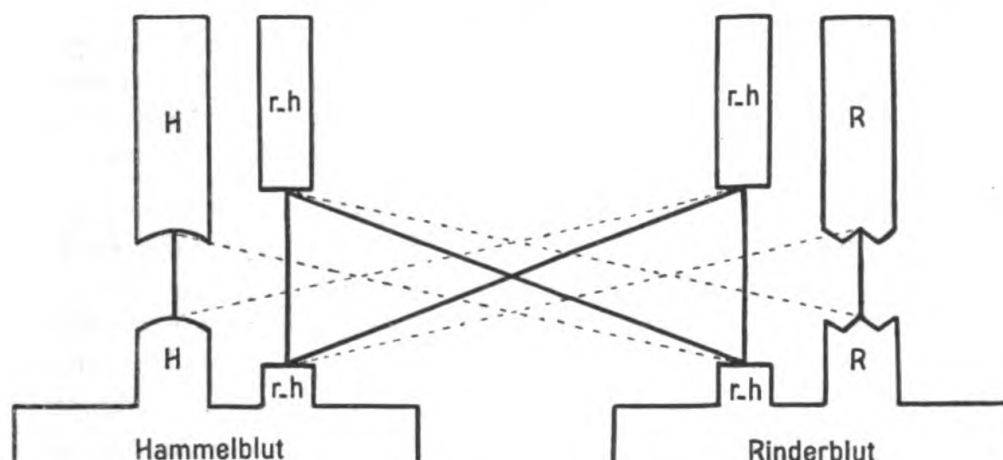
Allerdings glaubt Tsuneoka aus Bindungsversuchen mit Hammelblutimmunsera und Rinderblut und umgekehrt einen Widerspruch mit der Ehrlichschen Lehre ableiten zu müssen. Tsuneoka hat nämlich gefunden, daß der hämolytische Titer von Hammelblutantisera nach der Bindung an Rinderblut keine Abnahme erfährt. Nun ist aber von vornherein gerade nach der Ehrlichschen Lehre nicht zu erwarten, daß die hämolytische Wirkung auf Hammelblut durch Vorbehandeln mit Rinderblut wesentlich vermindert wird. Denn die Partialambozeptoren im Hammelblutimmunserum, die auch zugleich Rinderblut lösen, stellen ja nur einen mehr oder weniger geringen Anteil des gesamten Ambozeptorgehaltes für Hammelblut dar. Durch die Bindung an Rinderblut kann also nur eine äußerst geringe Abnahme an Hammelbluthämolysin erfolgen, die sich bei dem verhältnismäßig groben Verfahren der Ambozeptoreinstellung entweder gar nicht dokumentiert oder nur in ganz geringem Grade angedeutet sein kann. Stärkere Unterschiede sind natürlich denkbar, wenn die auch auf Rinderblut wirkenden Antikörper in verhältnismäßig großer Menge gebildet worden sind. Dem entsprechen aber auch im allgemeinen die von Tsuneoka mitgeteilten Versuchsprotokolle.

Die abweichenden Schlußfolgerungen, zu denen Tsuneoka gelangt, fußen auf der Annahme, daß die auch Rinderblut lösenden, durch Hammelblut erzeugten Ambozeptoren an den Hauptrezeptor des Rinderblutes gebunden werden müßten, die durch Rinderblut erzeugten, auch Hammelblut lösenden Rezeptoren aber an den Hauptrezeptor des Hammelblutes. Tsuneoka glaubt also, daß diejenige Rezeptorfraction des Hammelblutes, welche die Ambozeptoren für Rinderblut erzeugt, identisch ist mit dem Hauptrezeptor des Rinderblutes. Eine derartige Rezeptorengemeinschaft widerspricht aber der Rezeptorenlehre Ehrlichs. Im Sinne Ehrlichs bezieht sich die Rezeptorengemeinschaft lediglich auf Nebenrezeptoren, und dementsprechend kann der durch die Hauptrezeptoren ausgelöste Antikörper durch die heterologe Blutart überhaupt nicht gebunden werden. Die Bindungsverhältnisse entsprechen vielmehr, um bei dem Beispiel von Hammel- und Rinderblut zu bleiben, der folgenden schematischen Darstellung, in der mit „H“ die spezifischen Hammelblutambozeptoren, mit „R“ die spezifischen Rinderblutambozeptoren, mit „r-h“ die gemeinschaftlichen Rezeptoren und die ihnen entsprechenden Ambozeptoren bezeichnet sind¹⁾. (Siehe die Abbildung auf p. 549.)

1) Die fett ausgezogenen Verbindungslinien zeigen die Beziehungen zwischen Rezeptoren und Ambozeptoren nach der Rezeptorenlehre an,

Es ergibt sich also eine wesentliche Abweichung von der schematischen Darstellung Tsuneokas (p. 594), und die von Tsuneoka erhobenen Befunde entsprechen daher durchaus den sich aus der Rezeptorentheorie ergebenden Folgerungen. Das obige Schema gilt mutatis mutandis auch für die Beziehungen zwischen Hammelblut und Organzellen. Ersetzt man Rinderblut durch Meerschweinchenorgan, so stellt gleichfalls „r-h“ die gemeinsame Fraktion dar, ohne natürlich mit derjenigen im Rinderblut identisch zu sein.

Was nun die durch Organimmunisierung erzeugten Hammelblutantisera anlangt, so könnte es zunächst auffällig erscheinen, daß Organe und Bestandteile der verschiedenartigsten Tierarten in ausgesprochener Weise befähigt sind,



gerade Hammelblutantikörper entstehen zu lassen. Auf Grund der vollkommenen Uebereinstimmung zwischen Immunisierungs- und Bindungsvermögen, wie sie sich an erster Stelle aus den Versuchen von Orudschiew ergeben hat, ist aber ein Zweifel, daß hier Rezeptorgemeinschaften im Sinne Ehrlichs bestehen, kaum möglich. Allerdings glaubten Friedberger und Schiff die Frage, ob es sich bei der Bildung von Hammelbluthämolyse durch die Organe heterologer Tierarten um den Ausdruck eines eigentlichen Immunisierungsprozesses oder etwa um eine unspezifische Steigerung der normalen Hammelbluthämolyse im Kaninchen handelt, offen lassen zu sollen. Die Giftigkeit der Organextrakte entspricht nämlich nach den interessanten Hinweisen von Friedberger die feinen gestrichelten Linien entsprechen der abweichenden Darstellung Tsuneokas.

und Schiff einerseits ihrer Fähigkeit, Hämolysin zu bilden, andererseits derjenigen, die Wirkung der Hammelblutambozeptoren aufzuheben. Dementsprechend erörtern Friedberger und Schiff die Möglichkeit, daß nicht echte Ambozeptorbindung, sondern vielmehr ein Vorgang unspezifischer Ambozeptorzerstörung vorliegen könnte.

Schon Sachs und Nathan (vgl. auch Doerr und Pick) haben schwerwiegende Bedenken gegenüber dieser Hypothese geltend gemacht, und auch wir glauben von vornherein annehmen zu sollen, daß das vorliegende Tatsachenmaterial nicht auf diese Weise erklärt werden kann. Abgesehen von zahlreichen Gründen, die dagegen sprechen, zeigt ja schon der Umstand, daß die Organe der verschiedenen Tierarten so erheblich in der Fähigkeit, Hammelbluthämolysin zu bilden, differieren, sowie die Tatsache, daß die Bindung durch Organe spezifisch ist, d. h. sich eben nur auf Hammelbluthämolysin, nicht auf andere Ambozeptoren bezieht, deutlich, daß hier ein durchaus spezifisches Gepräge vorliegt, wie es eben nur den echten Antikörperreaktionen eigen ist. Trotzdem haben wir die beiden durch Friedberger und Schiff aufgerollten Fragen, ob es sich nämlich bei der Hammelbluthämolysinbildung nach Immunisierung mit Meerschweinchenorganen nur um eine unspezifische Antikörpersteigerung handelt, und ob bei der Bindung an Organe etwa eine Ambozeptorzerstörung vorliegt, zum Gegenstande weiterer Analyse zu machen versucht, und im folgenden möchten wir uns erlauben, über die Ergebnisse unserer im Jahre 1913 ausgeführten Untersuchungen zu berichten.

Schon Orudschiew hatte gezeigt, daß bei der Immunisierung von Kaninchen mit Kaninchenorganen sich gewisse Steigerungen des Ambozeptortiters für Hammelblut ergeben, und zwar bei der Immunisierung mit Kaninchenniere in höherem Grade, als bei der Immunisierung mit Kaninchenleber. Orudschiew glaubte jedoch, da es sich um Titerwerte handelte, die, wenn auch nur selten, bei der Prüfung normaler Kaninchensera beobachtet werden konnten, in den Versuchen nicht den Ausdruck einer gelungenen Immunisierung erblicken zu dürfen. Friedberger und Schiff haben nun bei der Immunisierung mit Kaninchenorganen teilweise etwas höhere Werte erzielt, ohne daß aber die höchsten

von ihnen beobachteten Titer die im günstigsten Falle normalerweise beobachteten überschritten. Man wird also noch nicht von einer gelungenen Immunisierung sprechen dürfen. Gleichwohl erscheint es durchaus möglich, daß die Injektion von Organextrakten im Sinne Friedbergers als unspezifischer Reiz zu einer Steigerung des normalen Antikörpergehaltes führt, die auch von der Giftigkeit der Organextrakte beeinflußt werden könnte (vgl. hierzu Sachs und Nathan).

Um weiteres Versuchsmaterial zur Entscheidung der Frage, ob bei der Bildung von hämolytischen Hammelblutambozeptoren durch Meerschweinchenorgan-Immunisierung ein spezifischer Vorgang oder eine unspezifische Reizwirkung vorliegt, zu erhalten, prüften wir das Verhalten der derart gewonnenen Antisera nicht nur gegen Hammelblut, sondern auch gegen Pferdeblut. Schon Orudschiew hat einen gesteigerten Ambozeptorgehalt für Pferdeblut im Meerschweinchennieren-Antiserum nicht feststellen können, obwohl bereits das normale Kaninchenserum einen mehr oder weniger hohen Ambozeptortiter für Pferdeblut besitzt. Wir haben nun systematisch bei einer großen Reihe von Kaninchen, die mit Meerschweinchennieren vorbehandelt waren, zu mehreren Zeitpunkten den Ambozeptorgehalt für Hammelblut und Pferdeblut gleichzeitig bestimmt und dabei, entsprechend den Angaben von Orudschiew, eine Steigerung nicht eintreten sehen.

Methodisch sind wir dabei, ähnlich wie Orudschiew, derart verfahren, daß wir Meerschweinchennierenbrei in physiologischer Kochsalzlösung möglichst fein suspendierten und zur Entfernung gröberer Partikel durch ein Drahtnetz schickten. Diese Organbreiaufschwemmungen wurden dann wiederholt mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und das wieder aufgenommene Sediment schließlich zur Injektion benutzt. Es zeigte sich dabei, daß die nicht oder ungenügend gewaschenen Nierensuspensionen, besonders bei intravenöser Injektion, für Kaninchen sehr giftig waren, während die gewaschenen Aufschwemmungen gut vertragen wurden.

Die Injektionen wurden teils intravenös, teils peritoneal vorgenommen. Da es uns aber wesentlich darauf ankam, die Titerwerte für Hammel- und Pferdeblut bei einem und demselben Kaninchen zu vergleichen, können wir auf genauere Angaben verzichten, und wir begnügen uns daher, in der folgenden Tabelle die bei einer Reihe von Kaninchen erhaltenen Immunisierungswerte anzuführen (siehe Tabelle I auf p. 552).

Aus der Tabelle ergibt sich in eindeutiger Weise, daß die wesentliche Steigerung des Antikörpergehaltes

Tabelle I.

	Blut von	Komplett lösende Dosis für 0,5 ccm Blutaufschwemmung unter Zusatz von 0,05 ccm Meerschweinchenserum nach der Immunisierung mit Meerschweinchen- nierensuspension								
		Tage nach der ersten Einspritzung								
		0	6	8	10	13	15	17	21	30
1	Hammel	0,025	0,005	0,005	0,01	.	0,01	.	.	0,015
	Pferd	0,05	0,05	> 0,1	> 0,1	.	0,025	.	.	0,1
2	Hammel	0,01	0,0025	0,002	0,005	.	.	0,0015	.	0,0005
	Pferd	0,15	> 0,1	> 0,1	> 0,1	.	.	> 0,1	.	> 0,1
3	Hammel	0,025	.	.	0,0015
	Pferd	> 0,25	.	.	0,1
4	Hammel	0,025	.	0,0025	0,005	.	.	0,0005	.	.
	Pferd	> 0,25	.	> 0,1	> 0,1	.	.	0,1	.	.
5	Hammel	0,025	.	.	0,0015	0,0005	0,0025	.	.	.
	Pferd	> 0,25	.	.	0,1	0,05	> 0,1	.	.	.
6	Hammel	0,1	.	0,015	0,015
	Pferd	0,25	.	> 0,1	> 0,1
7	Hammel	0,1	.	0,025	0,05
	Pferd	> 0,25	.	> 0,1	> 0,1
8	Hammel	0,1	.	.	0,0005
	Pferd	> 0,25	.	.	0,1
9	Hammel	0,1	.	0,005	0,0015
	Pferd	> 0,15	.	> 0,1	> 0,1
10	Hammel	> 0,25	0,0025
	Pferd	> 0,25	> 0,1
11	Hammel	> 0,25	.	.	0,001	.	.	.	0,0005	.
	Pferd	> 0,25	.	.	> 0,05	.	.	.	0,1	.
12	Hammel	> 0,25	.	.	0,001
	Pferd	> 0,15	.	.	> 0,1
13	Hammel	> 0,25	.	0,0015
	Pferd	> 0,25	.	> 0,1
14	Hammel	> 0,25	.	0,05	0,0001	.
	Pferd	> 0,25	.	> 0,1	—	.
15	Hammel	> 0,25	.	0,0015	0,0005
	Pferd	> 0,25	.	> 0,1	> 0,1
16	Hammel	> 0,25	.	0,0015
	Pferd	> 0,25	.	> 0,1
17	Hammel	> 0,25	.	0,001
	Pferd	> 0,25	.	> 0,1
18	Hammel	> 0,25	.	.	0,005
	Pferd	> 0,25	.	.	> 0,1

nur den Hammelblutambozeptor betrifft. Der Ambozeptortiter für Pferdeblut weist, wenn überhaupt, so nur geringgradige Schwankungen auf, und die Möglichkeit, daß diese der Ausdruck unspezifischer Reizwirkungen sind, soll keineswegs bestritten werden. Jedoch sind die Unterschiede in der Bildung von Hammelblutambozeptoren und in der Veränderung des Ambozeptortiters für Pferdeblut doch so erhebliche, daß der spezifische Immunisierungsprozeß von dem vielleicht in Betracht zu ziehenden unspezifischen Reizvorgang ohne weiteres zu unterscheiden ist.

Wir haben analoge Immunisierungsversuche auch mit Kaninchennierensuspension in etwas größerem Umfange angestellt, und zwar aus dem Grunde, weil ja den Kaninchenorganen der den Meerschweinchenorganen eigene Rezeptor für Hammelblutambozeptoren fehlt. Wenn aber wirklich die Steigerung des Ambozeptorgehaltes nur auf einen unspezifischen Reiz zurückzuführen wäre, so müßte man erwarten, daß bei der Immunisierung mit Kaninchennieren das Verhältnis zwischen der Steigerung des Ambozeptorgehaltes für Hammelblut und für Pferdeblut den bei der Immunisierung mit Meerschweinchnieren gewonnenen Erfahrungen entspricht. Wie die in Tabelle II (p. 554) wiedergegebene Uebersicht zeigt, ist das aber nicht der Fall.

Die Tabelle II zeigt, daß auch bei der Immunisierung mit Kaninchennierensuspension der Gehalt an Pferdeblutambozeptoren nur unwesentlichen Schwankungen unterworfen ist. Jedoch weist der Ambozeptortiter für Hammelblut auch hier gewisse Steigerungen auf, die sogar bei Kaninchen 5, 6, 9 und 17 die von Orudschiew und besonders von Friedberger und Schiff bei der Immunisierung mit Kaninchensuspension beobachteten noch etwas übertreffen dürften. Ob hierin der Ausdruck einer gelungenen Immunisierung, d. h. eines nur in sehr geringfügiger Menge in der Kaninchenniere enthaltenen Rezeptors für Hammelblutambozeptoren zu erblicken ist, soll dahingestellt bleiben. Wenn man die erhaltenen Werte von Hammelblutambozeptoren bei der Immunisierung mit Meerschweinchniere (Tabelle I) und mit Kaninchenniere (Tabelle II) vergleicht, so ergeben

Tabelle II.

	Blut von	Komplett lösende Dosis für 0,5 ccm Blutaufschwemmung unter Zusatz von 0,05 ccm Meerschweinchenserum nach der Immuni- sierung mit Kaninchennierensuspension							
		Tage nach der ersten Einspritzung							
		0	6	8	10	13	15	22	32
1	Hammel	0,01	0,01	0,015
	Pferd	0,25	> 0,1	> 0,1
2	Hammel	0,05	> 0,1	0,1	0,1	.	.	.	0,025
	Pferd	0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	.	.	.	> 0,1
3	Hammel	0,05	.	> 0,1
	Pferd	> 0,15	.	> 0,1
4	Hammel	0,1	0,1	.	> 0,1	.	> 0,1	.	.
	Pferd	> 0,25	> 0,25	.	> 0,1	.	—	.	.
5	Hammel	0,1	.	0,025	0,025	.	0,1	0,005	.
	Pferd	> 0,15	.	> 0,1	> 0,05	.	> 0,1	> 0,1	.
6	Hammel	0,15	0,1	0,05	0,05	.	.	0,01	0,0025
	Pferd	0,25	> 0,1	> 0,1	> 0,1	.	.	—	0,1
7	Hammel	0,15	0,1	0,1	> 0,1	.	.	0,1	0,025
	Pferd	0,25	> 0,1	> 0,1	> 0,1	.	.	—	> 0,1
8	Hammel	0,15	.	0,1
	Pferd	> 0,15	.	> 0,1
9	Hammel	0,15	.	.	0,025	0,005	.	.	.
	Pferd	> 0,25	.	.	> 0,1
10	Hammel	> 0,15	> 0,05	.	0,1	.	> 0,1	.	.
	Pferd	> 0,15	> 0,05	.	> 0,1	.	—	.	.
11	Hammel	> 0,25	> 0,1	> 0,1
	Pferd	0,2	0,1	> 0,1
12	Hammel	> 0,25	> 0,1	.	0,05	0,015	0,01	.	.
	Pferd	0,1	—	.	> 0,1	> 0,1	> 0,1	.	.
13	Hammel	> 0,25	> 0,1	.	0,05	> 0,1	.	.	.
	Pferd	> 0,25	—	.	> 0,1	> 0,1	.	.	.
14	Hammel	> 0,25	> 0,1	.	0,05	> 0,1	.	.	.
	Pferd	0,15	—	.	> 0,1	> 0,1	.	.	.
15	Hammel	> 0,25	.	> 0,1
	Pferd	> 0,15	.	> 0,1
16	Hammel	> 0,25	.	> 0,1
	Pferd	> 0,25	.	> 0,1
17	Hammel	> 0,25	.	0,005	0,005	0,01	.	.	.
	Pferd	> 0,25	.	> 0,1	> 0,1
18	Hammel	—	.	0,015	0,05	.	0,05	0,01	.
	Pferd	—	.	> 0,1	> 0,1	.	> 0,1	> 0,1	.

sich jedenfalls recht erhebliche Unterschiede. Bei der Immunisierung mit Meerschweincheniere ist in 16 von den mitgeteilten 18 Fällen der von uns beobachtete höchste Normaltiter (0,01) erheblich überschritten worden, während bei der Vorbehandlung mit Kaninchenniere nur 4mal eine Ueberschreitung beobachtet werden konnte.

Man könnte daher im Sinne von Friedberger und Schiff für die gelegentliche Steigerung des Gehaltes an Hammelblutambozeptoren bei der Vorbehandlung mit Kaninchenniere immerhin die Folgen einer unspezifischen Reizwirkung verantwortlich machen, die vielleicht sogar bei der Kaninchenniere, entsprechend ihrer meist höheren Giftigkeit, von größerem Einfluß ist, als bei der Immunisierung mit Meerschweincheniere. Wir glauben jedoch, die Verhältnisse bei der Immunisierung mit Meerschweinchenorganen hiervon scharf unterscheiden zu müssen, und dies um so mehr, als wir auch in sonstigen Immunisierungsversuchen bei der Vorbehandlung mit Meerschweincheniere fast immer sehr hohe Werte erhalten haben, während in unseren zahlreichen Immunisierungsversuchen mit Kaninchenniere eine Steigerung nur in Ausnahmefällen auftrat. Bei systematischer Vorbehandlung mit Meerschweincheniere haben wir sogar Ambozeptortiter für Hammelblut erhalten, die bei der Vorbehandlung mit Hammelblut recht ungewohnt sind. So haben wir mehrmals Meerschweinchenieren-Antisera gewonnen, die noch in der Menge von 0,000025 vollständig lösten. Bei der Vorbehandlung mit Kaninchenniere dagegen war uns das nicht entfernt möglich. Nur selten erreichten die Werte die in Tabelle II bezeichneten niedrigsten Dosen. Ein einziges Mal unter zahlreichen Versuchen erhielten wir allerdings einen Ambozeptortiter von 0,0005. Es erschien uns das auf Grund unserer zahlreichen Erfahrungen als eine solche Ausnahme, daß wir es dahingestellt lassen möchten, ob etwa hier ein Irrtum bei der Injektion vorgelegen hat.

Unsere weiteren Versuche sollten nun der Entscheidung der Frage gelten, ob der Funktionsverlust, den

Hammelblutambozeptoren durch Vorbehandlung mit Meerschweinchenorganen erleiden, gemäß unserer Auffassung auf spezifische Ambozeptorbindung zurückzuführen ist, oder ob etwa, wie es Friedberger und Schiff als Möglichkeit in Betracht ziehen, hierbei eine Zerstörung von Ambozeptoren vorliegen könnte, deren spezifisches Gepräge dann allerdings schwer verständlich erscheinen müßte.

Um festzustellen, ob der Ambozeptor zerstört oder gebunden ist, haben wir daher den durch Behandlung mit Meerschweinchennierensuspension unwirksam gewordenen Ambozeptor wieder zu restituieren versucht. Bekanntlich können Antigen-Antikörperverbindungen sowohl durch saure als auch durch alkalische Reaktion wieder zerlegt werden. Es handelt sich nicht nur um die Möglichkeit der Säurespaltung, wie sie für die Toxin-Antitoxinverbindung zuerst Morgenroth¹⁾, für die Rezeptor-Ambozeptorverbindung v. Liebermann und v. Fenyvessy²⁾ erwiesen haben, sondern es gelingt nach den Arbeiten von Sachs³⁾, Rondoni⁴⁾, Scaffidi⁵⁾ in gleicher Weise, vielleicht noch besser, durch Alkalieinwirkung aus der Toxin-Antitoxinverbindung oder aus den ambozeptorbeladenen Blutkörperchen den Antikörper zu gewinnen.

Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, haben wir mittels Einwirkung von Natronlauge versucht, ob es möglich ist, den durch Meerschweinchennierensuspension inaktivierten Ambozeptor wieder zu extrahieren.

10 ccm Meerschweinchennierensuspension wurden mit 25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchennieren-Antiserums und 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung 1 Stunde lang im Brutschrank digeriert. Die Mischung entsprach also 20-fach verdünntem Antiserum. Sodann wurde zentrifugiert. Es wurde dann:

- A. der derart erhaltene Abguß auf seinen Ambozeptorgehalt geprüft;
- B. das Sediment mit Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt und davon je 1 ccm

1) J. Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 50.

2) L. v. Liebermann und B. v. Fenyvessy, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 47, 1908, p. 274.

3) H. Sachs, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 11.

4) P. Rondoni, diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, p. 516.

5) V. Scaffidi, diese Zeitschr., Bd. 21, 1914, p. 17

a) mit 4,5 ccm $\frac{1}{150}$ Normalnatronlauge,
 b) mit 4,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung
 10 Minuten lang im Brutschrank digeriert. Die durch Zentrifugieren erhaltenen Abgüsse von a und b wurden ebenfalls auf ihren Ambozeptorgehalt geprüft. In Reihe

C. wurde als Kontrolle 20-fach verdünntes Antiserum ohne Vorbehandlung auf seine hämolytische Kraft geprüft.

Die Bestimmung des Ambozeptorgehaltes wurde, um antikomplementäre Einwirkungen auszuschließen, derart vorgenommen, daß die zu prüfende Flüssigkeit in absteigenden Mengen zunächst 1 Stunde lang mit je 0,5 ccm Hammelblut digeriert wurde. Sodann wurden erst nach dem Zentrifugieren die mit physiologischer Kochsalzlösung wieder aufgenommenen Blutkörperchensedimente mit je 0,05 ccm Meerschweinchenserum beschickt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Mengen, entsprechend 20-facher Antiserum- verdünnung ccm	Hämolyse von Hammelblut durch Meerschweinchenserum und Meerschweinchennieren-Antiserum			
	A. nach Vorbe- handlung mit Nieren- suspension	B. gebunden an Nierensuspension und nachbehandelt mit		C. nativ
		a) $\frac{1}{150}$ n. NaOH	b) NaCl	
1,0	komplett	komplett	Spur	komplett
0,5	"	"	Spürchen	"
0,25	"	"	"	"
0,15	"	"	0	"
0,1	stark	"	0	"
0,05	Spur	"	0	"
0,025	Spürchen	fast komplett	0	"
0,015	0	mäßig	0	"
0,01	0	Spur	0	"
0,005	0	0	0	fast komplett
0,0025	0	0	0	wenig
0	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich (B, b), daß aus der mit Meerschweinchennieren-Antiserum beladenen Meerschweinchennierensuspension durch physiologische Kochsalzlösung Ambozeptor nur in Spuren zu erhalten ist. Dagegen zeigt Kol. B, a, daß durch Einwirkung verdünnter Natronlauge ein ganz erheblicher Anteil des vorhandenen Ambozeptors wieder frei wird¹⁾. Es gelingt also, durch Behandlung des mit Antiserum beladenen

1) Daß die Natronlauge oder der Organextrakt nicht etwa die Hämolyse bewirkt, wurde durch besondere Kontrollen sichergestellt.

Nierensediments mit Natronlauge einen erheblichen Teil des Ambozeptors in funktionsfähigem Zustande wiederzugewinnen.

Will man die restituierte Menge rechnerisch bestimmen, so ergibt sich aus einem Vergleich der Kol. A und C, daß von je 100 Ambozeptoreinheiten etwa 90—93 durch die Vorbehandlung mit Nierensuspension verbraucht worden sind. Durch die Nachbehandlung mit Natronlauge sind nun freilich von 93 verbrauchten Ambozeptoreinheiten, wie Kol. B, a zeigt, nur etwa 20 Ambozeptoreinheiten wiedergewonnen worden. Man darf sich zunächst mit diesem Resultat durchaus begnügen. Denn es zeigt uns in einwandsfreier Weise, daß mindestens ein großer Teil des durch Meerschweinchennierensuspension inaktivierten Hammelblutambozeptors tatsächlich gebunden und nicht etwa zerstört worden ist. Man kann aber natürlich keineswegs ohne weiteres erwarten, daß es durch Behandeln mit Natronlauge gelingt, zu einer quantitativen Restitution des Ambozeptorgehaltes zu gelangen. Zu den naheliegenden Gründen, die das von vornherein unwahrscheinlich erscheinen lassen, kommt noch die von uns aufgefundene Tatsache hinzu, daß die durch Natronlauge gewonnenen Abgüsse von den zuvor mit Antiserum beladenen Meerschweinchennierensuspensionen keineswegs nur den Ambozeptor, sondern auch gleichzeitig ambozeptorbindende Rezeptoren der Meerschweinchenniere enthalten. Es ergab sich nämlich, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt, daß nach dem Neutralisieren der durch Alkalieinwirkung gewonnenen Abgüsse die Ambozeptorwirkung wieder schwindet.

Je 1 ccm Meerschweinchennierensuspension wurden mit 2,5 ccm 70-fach verdünnten Meerschweinchennieren-Antiserums und 1,5 ccm Kochsalzlösung 1 Stunde lang im Brutschrank bei 37° digeriert. Nach dem Zentrifugieren wurde:

- A. der Abguß auf Ambozeptorgehalt geprüft;
- B. ein Sediment mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm aufgefüllt, mit 4,5 ccm $\frac{1}{150}$ Normalnatronlauge 30 Minuten lang im Brutschrank digeriert und sodann zentrifugiert;
- C. ein weiteres Sediment wurde ebenso behandelt, der Abguß aber schließlich durch Zusatz von 0,45 ccm $\frac{1}{15}$ Normalsalzsäure neutralisiert.

In Reihe D wurde endlich der Ambozeptorgehalt des nativen 140-fach verdünnten Antiserums als Kontrolle bestimmt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Mengen des 140-fach verdünnten Antiserums ccm	Hämolyse von Hammelblut durch Meerschweinchenserum und Meerschweinchennieren-Antiserum			
	A. nach Vorbe- handlung mit Nieren- suspension	B. gebunden an Nierensuspension und nachbehandelt mit $\frac{1}{100}$ n. NaOH	C. wie B, aber neutralisiert	D. nativ
1,0	0	0	0	komplett
0,5	0	fast komplett	0	"
0,25	0	mäßig	0	"
0,15	0	Spur	0	"
0,1	0	Spürchen	0	"
0,05	0	0	0	fast komplett
0,025	0	0	0	wenig
0,015	0	0	0	Spur
0,01	0	0	0	Spürchen
0	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die Nierensuspension die vorgelegte Ambozeptormenge praktisch vollständig gebunden hat. Trotzdem ist es gelungen, wie Spalte B der Tabelle zeigt, durch Behandeln mit verdünnter Normalnatronlauge einen nicht unerheblichen Teil des Ambozeptors wiederzugewinnen¹⁾. Nach dem Neutralisieren verschwindet diese Ambozeptorwirkung, wie Spalte C zeigt, jedoch vollständig wieder. Man kann diesen Befund nicht anders erklären, als durch die Annahme, daß in der abzentrifugierten Flüssigkeit nicht nur der Ambozeptor, sondern zugleich die entsprechenden Rezeptoren vorhanden sind. Das ändert natürlich nichts an der durch uns erwiesenen Möglichkeit, den Ambozeptor durch Natronlaugeeinwirkung funktionsfähig wiederzugewinnen. Es wird nur gezeigt, daß sogar der durch Natronlauge zur hämolytischen Wirkung gelangende

1) Das Ausbleiben der Hämolyse im obersten Gliede der Spalte B ist auf antikomplementäre Wirkungen zurückzuführen.

Ambozeptor nach der Neutralisation wieder mit dem Rezeptor reagieren kann.

Daß die Wiedergewinnung des Ambozeptors durch Natronlaugewirkung nicht quantitativ erfolgt, darf nicht überraschen. Der Nachweis, daß überhaupt Ambozeptor durch Natronlaugewirkung in nicht unerheblichem Maße restituiert werden kann, genügt wohl, um festzustellen, daß jedenfalls hier eine Antigen-Antikörperreaktion vorliegt, und es liegt kein Grund vor zu der Annahme, daß daneben etwa noch ein Zerstörungsvorgang beteiligt ist.

Man darf auch nicht übersehen, daß die alkalische Reaktion ja in gleicher Weise, wie sie die Vereinigung zwischen Meerschweinchenorgan-Rezeptoren und -Ambozeptoren hemmt, auch die Bindung des Ambozeptors an die Blutzellen verhindert. Wenn es daher überhaupt möglich ist, unter den bestehenden Verhältnissen eine Loslösung des Ambozeptors von den Organrezeptoren durch Natronlaugewirkung zu demonstrieren, so liegt das offenbar nur daran, daß eine Verteilung der Ambozeptoren auf Hammelblut und Organrezeptoren stattfindet. Man kann dabei annehmen, daß durch den Zusatz von Meerschweinchenserum als Komplement die wirkliche Alkaleszenz so vermindert wird, daß eine Ambozeptorbindung wieder stattfinden kann. In diesem Falle dürfte aber kein Grund zu der Annahme vorliegen, daß der gesamte Ambozeptorvorrat sich mit den Blutkörperchen verbindet, es dürfte vielmehr wahrscheinlich erscheinen, daß er sich auf die Blutkörperchenrezeptoren und die gleichzeitig vorhandenen Organrezeptoren verteilt. Wenn dem aber so ist, so kann man schwerlich einen quantitativen Nachweis der Ambozeptoren erwarten.

Man muß auch bei der Einwirkung der Natronlauge in der hier vorliegenden Anordnung die Erfahrungen berücksichtigen, die sich aus den Untersuchungen Morgenroths und seiner Schüler über das Ueberspringen (Transgression) von Ambozeptoren ergeben haben. Für die hier behandelte Frage sei insbesondere auf die neuere Arbeit von Morgenroth und Bieling verwiesen, die durch den Nachweis des Ueberganges gebundener, durch Organimmunisierung gewon-

nener Ambozeptoren auf Blutkörperchen bereits zeigt, daß eine wirkliche Ambozeptorbindung vorliegt. Es ist immerhin möglich, daß die alkalische Reaktion zu gleicher Zeit eine Transgression der Ambozeptoren von den Organrezeptoren auf die Blutkörperchenrezeptoren begünstigt. In einer folgenden Arbeit des einen von uns (Georgi) soll auf die Bindungsverhältnisse bei den Organrezeptoren noch näher eingegangen werden.

Wie dem aber auch sei, jedenfalls zeigen unsere Versuche, daß die Bindung der Hammelblutambozeptoren an Organzellen auch darin den allgemeinen Antigen-Antikörperreaktionen entspricht, daß es durch alkalische Reaktion möglich ist, den Ambozeptor wiederzugewinnen. Man kann hier, wie wir gezeigt haben, durch Neutralisieren auch den abgespaltenen Ambozeptor wieder zur Verankerung bringen, und es entspricht also sowohl die Bildung als auch die Verankerung von Hammelblutambozeptoren an Organe heterologer Tierarten durchaus den sich aus der Rezeptorenlehre ergebenden Forderungen.

Zusammenfassung.

1) Die Bildung von Hammelblutambozeptoren nach Vorbehandlung von Kaninchen mit Meerschweinchenorganen entspricht einem echten Immunisierungsprozeß. Die Steigerung des Antikörpergehaltes betrifft einseitig den Hammelblutambozeptor und erreicht nicht selten außerordentlich hohe Werte.

2) Im Gegensatz dazu sind die Schwankungen des Hammelblutambozeptorgehaltes nach Vorbehandlung von Kaninchen mit Kaninchenorganen meist unerheblicher Art. Sie können im Sinne von Friedberger und Schiff auf eine unspezifische Reizwirkung bezogen werden, die vielleicht auch den Meerschweinchenorganen eigen ist. Ob daneben noch ein geringes Immunisierungsvermögen der Kaninchenorgane besteht, muß dahingestellt bleiben. Indessen ist der quantitative Unterschied in der Fähigkeit der Meerschweinchen- und

Kaninchenorgane, Hammelblutambozeptoren zu erzeugen, so außerordentlich groß, daß man den Meerschweinchenorganen jedenfalls eine starke Rezeptorfunktion zuschreiben muß, während sie bei Kaninchenorganen fehlt oder nur in minimalem Grade vorhanden ist.

3) Es gelingt, aus Meerschweinchenorganen, die mit dem betreffenden Antiserum vorbehandelt sind, den Hammelblutambozeptor durch Natronlaugeeinwirkung wiederzugewinnen. Das spricht gegen eine Zerstörung des Ambozeptors durch die Organsuspension und für eine spezifische Ambozeptorbindung an die entsprechenden Zellrezeptoren.

4) Zentrifugate, die durch Behandeln ambozeptorbeladener Organsuspensionen mit Natronlauge gewonnen werden, enthalten nicht nur den Ambozeptor, sondern auch den Rezeptor. Durch Neutralisieren der Zentrifugate wird nämlich die ihnen eigene Ambozeptorwirkung wieder aufgehoben.

Nachdruck verboten.

[Aus der serologischen Abteilung (Prof. Dr. R. Otto) des Kgl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“, Berlin (stellvertretender Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. Neufeld).]

Morphologische und biologische Beobachtungen an der Spirochäte der Weilschen Krankheit.

Von Stabsarzt Dr. **W. Dietrich**, kommandiert zum Institut.

Mit 1 Tafel, 8 Figuren und 2 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. März 1917.)

Nach den Arbeiten der Japaner Inado, Ido, Kaneko, Hoki und Ito (1) und den unabhängig von ihnen erfolgten Untersuchungen von Hübener und Reiter (2) und Uhlenhuth und Fromme (3) muß es als sicher gelten, daß die Weilsche Krankheit (Icterus infectiosus) durch eine Spirochäte hervorgerufen wird, welche die Japaner, die sie wahrscheinlich zuerst sahen und deren Namengebung daher wohl angenommen werden muß, als *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* bezeichnen, während Hübener und Reiter die Bezeichnung *Spirochaeta nodosa*, Uhlenhuth und Fromme den Namen *Spirochaeta icterogenes* vorschlagen. Doch läßt sich immerhin zurzeit noch nicht mit Sicherheit entscheiden, ob die von den japanischen Untersuchern gefundenen Gebilde mit denen der deutschen Forscher völlig identisch sind.

Die japanischen Autoren schildern die Spirochäte als feine, außerhalb der Blutzellen liegende, geißellose Fäden von 0,25 μ Breite und 4–20 μ Länge, deren Enden hakenförmig nach der gleichen oder entgegengesetzten Seite umgebogen seien (C- oder S-förmig), mit meistens 2–3 oder 4–5 unregelmäßigen Windungen. Im Dunkelfeld sollen heller beleuchtete mit dunkleren Stellen abwechseln, so daß ein rosenkranzartiges Gebilde aus 25–30–40 „granules“ entstehe.

Uhlenhuth und Fromme geben von der Spirochäte folgende Schilderung: „Die Formen sind sehr fein, zart und schlank, sie zeigen im gefärbten (Giemsa) Präparat (Leber und Blutausschnitt) keine typischen Windungen, wie etwa die Pallida- oder Recurrensspirochäte, vielmehr

weisen sie bizarre Schlängelungen, Krümmungen, Ringformen und Schleifenbildungen auf, bisweilen sieht man an beiden Enden eine Krümmung nach der gleichen Richtung, so daß kleiderbügelartige Formen entstehen. An den Enden zeigen sich häufig kleinste knopfartige Verdickungen, die sich bisweilen auch in der Mitte oder mehr nach den Enden zu finden. Hier und dort sieht man auch kleine ösenartige Gebilde an einem Ende. Die Mikroorganismen zeigen verschiedene Länge. Meist sind sie länger als der Durchmesser einer roten Blutzelle, bisweilen so lang wie der Umfang eines roten Blutkörperchens. Oft sind sie kurz und kommaförmig. In Giemsa-präparaten sind sie blaßrötlich gefärbt, ähnlich wie die *Pallida*. „Im Dunkelfelde von Leberaufschwemmungen bewegen sich die Parasiten mit wurmähnlichen Krümmungen, zum Teil rollenden Bewegungen, mäßig lebhaft durchs Gesichtsfeld. Sie treten wegen ihrer Feinheit nicht so deutlich hervor, wie etwa die *Recurrentespirochäten* oder die *Pallida*, indem sie sich nur in matterem Lichte zeigen. An den Enden sieht man bisweilen stärker lichtbrechende Körnchen. Auch sieht man hier und da — besonders bei den *Kulturspirochäten* — sehr feine enge Windungen.“

Hübener und Reiter, welche die gleichen Gebilde zweifellos vor Uhlenhuth und Fromme in den infizierten Meerschweinchen gesehen haben, sie aber erst später als *Spirochäten* erkannten¹⁾, beschreiben sie als „feine Fäden, die den Eindruck von *Spirochäten* machen, teils einzeln liegen, teils zu wirren Bündeln zusammengeballt sind. Jede Regelmäßigkeit in Größe und Windung wird vermißt, oft sind die *Spirochäten* langgestreckt, wie gedehnt, und nur die Enden scheinen ein wenig umgeschlagen. Ist der Umschlag vollständig, so entstehen Oesen- und Schleifenformen, oder sie haben große Windungen, peitschenschlagähnlich; nur ganz selten glaubt man in der Art der Windungen eine gewisse Regelmäßigkeit beobachten zu müssen. Die *Spirochäten*, die oft Blutkörperchen oder anderen Zellen angelagert sind, sind äußerst fein und zeigen bei Giemsa-Färbung eine rötliche Farbe. Häufiger sieht man an einem Ende der *Spirochäte* ein sich ebenfalls mit Giemsa rotfärbendes Knöpfchen, so daß dann mehr kaulquappenähnliche Bilder entstehen. Zuweilen scheinen von solchen Knöpfchen Geißelgebilde büschelförmig auszustrahlen, auch Knöpfchenbildung in der *Spirochäte* kann man beobachten.“

Durch das lebenswürdige Entgegenkommen von Herrn Geheimrat Uhlenhuth wurden, einer Bitte von Herrn Professor Otto entsprechend, dem Institut „Robert Koch“ im Januar 1916 mehrere mit *Spirochäten*stämmen verschiedener Herkunft infizierte Meerschweinchen übersandt. Einer dieser Stämme wurde seitdem durch mehr als 35 Tierpassagen weitergeführt. Diese Passagen waren mehrmals durch Fortzüchtung in Kulturen unterbrochen (zusammen etwa 30 Kulturüberimpfungen), ohne daß sich bis jetzt die

1) Vgl. Flügge, Zeitschr. f. Hygiene, 1916, p. 196.

Form oder Virulenz der Spirochäte für die Versuchstiere geändert hat¹⁾.

Die Anlegung und Fortzüchtung der Kulturen gelang ohne Schwierigkeiten nach dem zuerst von Ungermann (5) angegebenen Verfahren, wobei die Angaben von Ungermann und Reiter (4) in jeder Hinsicht bestätigt werden konnten. Die Kulturen wurden für gewöhnlich in frischem oder inaktiviertem Kaninchenserum mit einem Zusatz von $\frac{1}{3}$ Teilen schwach alkalischer Bouillon — keimfrei filtriert — unter Paraffinabschluß angelegt, alle 8 Tage etwa überimpft und von Zeit zu Zeit im Tierversuch geprüft. Nur bei ununterbrochener Fortzüchtung in Kulturen konnte bei der 10. bis 12. Ueberimpfung regelmäßig eine Abnahme der Pathogenität beobachtet werden. Doch wurde die Virulenz durch einige Meerschweinchenpassagen, wie dies auch Ungermann (6) erwähnt, schnell wieder zur alten Höhe gebracht.

Die Spirochäten wuchsen sowohl unter aëroben Verhältnissen, wie unter Paraffinabschluß, als auch unter streng anaëroben Bedingungen (Pyrogallussäure in Buchnerröhrchen). Dabei fiel, wie schon Reiter (4) beobachtet hat, auf, daß bei Sauerstoffzutritt das Wachstum bedeutend langsamer vor sich ging. Bei völligem Sauerstoffabschluß erfolgte das Wachstum sehr schnell, erreichte nach 2—3 Tagen bereits seinen Höhepunkt und ließ dann rasch nach, um dem Auftreten eigenartiger Körnchen (Granula) zu weichen, auf welche später noch zurückgekommen werden wird. Auch im Kondenswasser von Serum-Agarröhrchen sah ich unter aëroben Bedingungen gutes Wachstum; auf der Oberfläche fester Nährböden jedoch wurden nie Kulturen erzielt.

Wesentliche Unterschiede in der Gestalt, der Färbbarkeit oder den Bewegungsformen zwischen dem unmittelbar dem Tierkörper entnommenen Spirochätenmaterial und solchem aus Kulturen konnten nicht festgestellt werden, doch waren

1) Auch die Virulenz für Menschen ist in keiner Weise herabgesetzt, wie dies der beklagenswerte Tod des wissenschaftlich hochverdienten Mitgliedes des Georg Speyer-Hauses in Frankfurt a. M. Dr. Gonder leider beweist. Er ist einer Laboratoriumsinfektion mit unserem Stamme, den ihm Herr Professor Otto erst vor kurzer Zeit auf seine Bitte übersandt hatte, zum Opfer gefallen.

Bewegung, Formenbildung und feinerer Bau wohl infolge des klareren, von Gewebsbestandteilen freien Nährmediums an Kulturspirochäten bedeutend besser erkennbar, als an Material aus dem Tierkörper. Am schönsten ließen sich meines Erachtens die Feinheiten des Spirochätenkörpers an Kulturspirochäten erkennen, die in Ringerscher Flüssigkeit gewaschen waren; in dieser Aufschwemmung halten sich die Spirochäten längere Zeit. Im Eisschrank behielten sie z. B. in dieser Flüssigkeit ihre Form und lebhaftere Beweglichkeit über 72 Stunden bei.

Bei Dunkelfeldbeleuchtung imponiert die Spirochäte zunächst als ein mannigfach gestalteter, lebhaft beweglicher feiner Faden. Meist überwiegt, wenigstens in frischem Material, die gestreckte, nur an einem oder beiden Enden leicht umgebogene Form. Je intensiver die Bewegung, desto gestreckter die Gestalt, so daß das Mittelstück bisweilen wie ein starrer gerader Stab erscheint, der durch das eine, in schneller Rotation befindliche, wie ein Propeller arbeitende Ende des Spirochätenleibes, das bei heftiger Bewegung sich mehr und mehr zur geraden Linie streckt, vorwärts bewegt wird, während das hintere Ende leicht hakenförmig umgebogen erscheint (Fig. 1). Unvermutet kommt dann ein Augenblick der Ruhe, wo die Spirochäte wie erstarrt sich von der Strömung hin und her treiben läßt, um dann mit derselben heftigen Rotationsbewegung in umgekehrter Richtung davonzueilen, und so hin und her zu pendeln. Werden die Bewegungen der Spirochäten langsamer, so verschwinden diese schraubenden gestreckten Formen, und die peitschenden, schlängelnden Bewegungen treten in den Vordergrund. Trocknet das Medium nach und nach ein, so werden die Bewegungen fast kriechend, wurmartig, gleichsam als ob die Spirochäte vor den eingetrockneten Stellen wie vor Hindernissen auswiche. Sterben die Spirochäten bei noch reichlich vorhandener Aufschwemmungsflüssigkeit ab oder tötet man sie, z. B. durch einen Zusatz von Osmiumsäure, ab, so beobachtet man die von Uhlenhuth und Fromme beschriebenen, kleiderbügelähnlichen Formen. Wie man jedoch im Dunkelfeld bei langsam durch den Strom getriebenen, sich drehenden Individuen erkennen kann, liegt ein solcher „Kleiderbügel“ durchaus nicht

in einer Ebene. Die beiden Endbiegungen, die häufig um etwa 90° zueinander gedreht sind, bilden keine einfache halbkreisförmige Krümmung, wie man dies nach den Trockenpräparaten annehmen könnte, sondern sind ziemlich scharf gegen das Spirochätenmittelstück abgebogen, in etwa $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Schraubenwindung, wie die Spitze eines Korkziehers, gewunden.

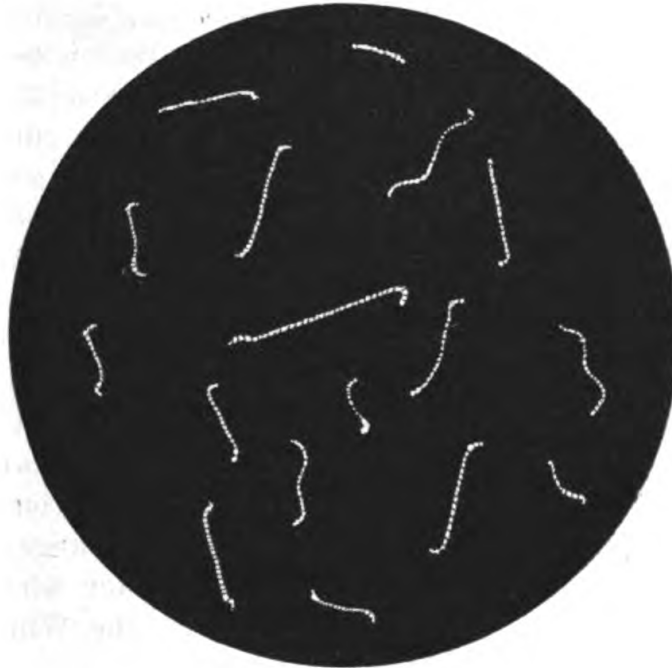


Fig. 1.



Fig. 2.

Fig. 1. Gewaschene Kulturspirochäten bei starker Lichtquelle im Leitzschen Dunkelfeld. (Nach dem lebenden Präparat gezeichnet.)

Fig. 2. Weil-Spirochäte. Vergr. ca. 5000-fach. (Schematische Zeichnung.)

Stellt man bei starkem Licht, im Leitzschen Dunkelfeld, die durch Waschen, z. B. in Ringerscher Lösung, von allen störenden Serumresten befreiten Spirochäten scharf ein, so erscheint der Spirochätenleib zunächst wie aus feinen, hellleuchtenden Körnchen zusammengesetzt, eine Erscheinung, welche Reiter (4) sehr treffend als „perlschnurartig“, die Japaner (1) als „rosenkränzähnlich“ bezeichnen (Fig. 1). Wie sich jedoch bei vitaler Färbung herausstellt, handelt es sich hierbei um allerfeinste Windungen, welche den ganzen Leib bis dicht zu den äußersten Spitzen durchziehen. Wird ein Tropfen

gewaschener Kultur auf dem Objektträger mit einem Tropfen Methylviolett gemischt und unter das Mikroskop gebracht, so sieht man nach wenigen Sekunden tief violett gefärbte Spirochäten, an denen man leicht die charakteristischen engen Spiralwindungen erkennen kann (Fig. 3, 4, 5 und 7). Aber auch im Romanowski- oder Giemsa-Präparat von Kulturmateriel (Fig. 6) sind gelegentlich die Windungen sehr schön sichtbar. Diese „primäre“ Spirale hat einen außerordentlich kleinen Innendurchmesser, der sich unterhalb meßbarer Grenzen bewegt. Die Windungen stehen etwa in einem Winkel von 45° zur Längsachse der Spirochäte und haben jede einzeln eine Länge von $0,4\text{--}0,5\ \mu$. Nach Messungen von Prof. Zettnow und mir, die im allgemeinen die Angaben der Japaner bestätigen, betrug die Dicke der ganzen Spirochäte (ohne Rücksicht auf die Spiralwindungen), am Trockenpräparat gemessen, $0,2\text{--}0,25\ \mu$, am vital gefärbten Präparat $0,25\text{--}0,3\ \mu$, während die Länge von $5\text{--}20\ \mu$ schwankt, so daß die Einzelindividuen, je nach der Länge, $10\text{--}50$ Windungen haben können. Allerdings werden gelegentlich auch kürzere Spirochäten mit nur etwa $3\text{--}4$ Windungen besonders im Material aus dem Tierkörper beobachtet. Die erwähnten primären Spiralwindungen bleiben auch erhalten, wenn die Spirochäte abgetötet wird oder langsam abstirbt; sie sind also präformiert. Die Windungen sind von großer Regelmäßigkeit, nur an den Enden scheinen sie bisweilen etwas auseinandergezogen. Aus diesem Grunde und mit Rücksicht besonders auf die Bilder im Giemsa-Ausstrichpräparat erscheint es möglich, daß die Windungen durch einen ungefähr der idealen Längsachse folgenden elastischen, flexiblen Achsenfaden gestützt werden, wenn es bei der Kleinheit der Objekte und mangels geeigneter Differenzialfärbung auch nicht gelungen ist, diesen Faden im Spirochätenleib sicher erkennbar darzustellen (Fig. 2 schematisiert)¹⁾.

1) Wie erst bei der Niederschrift dieser Arbeit bekannt wurde, nimmt Zülzer einen solchen, im Protoplasma des Spirochätenkörpers verlaufenden Achsenfaden, ähnlich wie bei der Plicatilis, an. (Vortrag im Verein Naturforschender Freunde am 9. Januar 1917.) Ausführliche Arbeit erscheint in: Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, Bd. 51, 1917, Heft 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

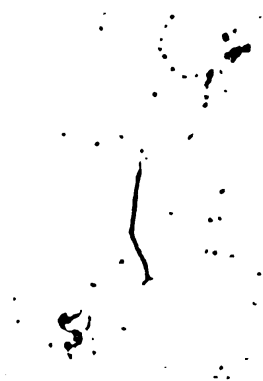


Fig. 5.

Fig. 3. Vitale Färbung (Methylviolett). Vergr. 3000-fach. „Primäre“ Windungen und „sekundäre“ Schlingelung.

Fig. 4. Vitale Färbung. Vergr. 3000-fach. „Primäre“ Windungen. Teilungsknötchen.

Fig. 5. Vitale Färbung. Vergr. 1000-fach. „Knospe“ am unteren Ende. In der Mitte Teilungsknötchen.



Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.

Fig. 6. Romanowski-Färbung. Vergr. 1000-fach. Teilungsfaden.

Fig. 7. Vitale Färbung. Vergr. 3000-fach. „Primäre“ Windungen und Körnchenbildung im Spirochätenleib.

Fig. 8. „Granula“-Haufen in älterer Kultur (7-tägig). Giemsa-Färbung. Vergr. 1000-fach.

Herrn Professor Zettnow, dessen Liebenswürdigkeit ich vorstehende Photographien verdanke, möchte ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Diesen feinen primären Schraubenwindungen gegenüber sind die „sekundären“ Windungen oder, besser gesagt, Schlängelungen des Körpers, die nicht selten zu Schleifen- und Ringbildung führen, von ganz unregelmäßiger, bizarrer Art, wie dies schon die eingangs erwähnten Autoren beschreiben, und nur als Folgen der Bewegung des außerordentlich flexiblen Spirochätenleibes anzusehen; sie gehen auch beim Absterben des Organismus bis auf die beschriebenen korkzieherartigen Ausläufer größtenteils verloren.

Geißeln, wie sie bei *Recurrans*, *Spiro-nema buccalis* oder *Balanitisspiro-nemen* beschrieben sind, ließen sich weder mit Zettnowscher Geißelfärbung noch mit Löfflerbeize darstellen.

Sehr schön zeigten sich bei jüngeren, 3—4-tägigen Kulturen die Teilungsvorgänge. Die Vermehrung konnte als echte Querteilung erkannt werden: In den längeren Individuen entstand an einer, bisweilen auch an zwei oder drei Stellen eine kleine knotenartige Verdickung (Fig. 4 u. 5). An diesen Punkten bewegten sich die Spirochäten, wie in einem Gelenk, oft in scharfem Knick heftig gegeneinander. Manchmal kam es zu Inkurvationen, wie sie von verschiedenen Autoren z. B. bei *Cristispira* beschrieben sind (7). Gelegentlich konnte beobachtet werden, wie an solchen Stellen die Spirochäten sich immer dünner auszog (Fig. 6), um dann endlich in zwei Einzelindividuen auseinanderzureißen.

Zu erwähnen wären an dieser Stelle noch die fast von allen bisherigen Untersuchern beschriebenen Knospen, Körnchen und Granulabildungen, die Hübener und Reiter (2) für so charakteristisch halten, daß sie hiervon den Namen *nodosa* ableiteten. Sowohl in Material frisch aus dem Tierkörper, als auch in Kulturspirochäten konnten diese Gebilde in großer Zahl beobachtet werden. Ihr Auftreten läßt sich vorzüglich in Kulturen verfolgen, da man hier beliebig altes Material jederzeit entnehmen kann. Hierbei konnte festgestellt werden, daß in jungen, 1—3-tägigen Kulturen Knöpfchen oder Knospen an den Spirochäten fast nie zu beobachten waren. Zwar schienen auch hier bisweilen im Dunkelfeld besonders an den Enden stärker leuchtende Körnchen sich zu befinden, die anscheinend dicker waren als die Spirochäten, doch konnte man bei längerer Beobachtung, wenn die Spiro-

chäte ihre Lage wechselte, regelmäßig feststellen, daß eine Täuschung vorlag und die „Körnchen“ nur dadurch entstanden waren, daß eine aus der allgemeinen Ebene der Spirochäte hervorspringenden Stelle — meist waren es die Umbiegungsstellen der korkzieherartigen Enden oder die Spitzen der Enden selbst — stärker beleuchtet waren. Die „Körnchen“ verschwanden, sowie die Spirochäte ihre Lage änderte. Wurde die Kultur älter, so fand man allerdings mehr und mehr Spirochäten, die an den Enden oder gestielt an der Spirochäte sitzende knospenartige Kügelchen oder im Spirochätenleib liegende Plasmakörnchen zeigten (Fig. 5 u. 7). Je älter die Kulturen wurden, um so häufiger begegnete man solchen Körnchenbildungen. Schließlich fanden sich diese nun nicht mehr in und an den Spirochäten selbst, sondern auch in Haufen freiliegend (Fig. 8). Häufig hingen am Rande solcher Haufen, wie dies auch Reiter (4) beschreibt, noch einzelne Spirochätenfäden heraus. Es hat den Anschein, als ob diese „Granulahaufen“ aus den in älteren Kulturen zahlreich auftretenden Knäuelbildungen entstünden. Schließlich fanden sich, meist erst nach 4—6 Wochen, in den Kulturen nur noch solche Granulahaufen, während die Spirochäten gänzlich verschwunden waren.

Infektionsversuche, sowie Kulturüberimpfungen mit solchem, nur Körnchen, aber keine Spirochäten mehr enthaltendem Material, fielen sämtlich negativ aus, so daß die Granula wohl nichts weiter als Degenerationsformen der Spirochäte sein dürften [Otto (8)]. Zwingende Gründe aber für die Annahme, daß von diesen Granula die Knospen- und Körnchenbildung am und im Spirochätenleib unterschieden werden, und daß in diesen entwicklungsfähige Stadien der Spirochäten erblickt werden müßten [Reiter (4) und Meirowski (9)], liegen bis jetzt nicht vor. Die von Hübener und Reiter, sowie von den Japanern angestellten positiven Filtrierversuche sind jedenfalls nicht beweisend hierfür.

Nachdem ich dazu übergegangen war, spirochätenhaltiges Meerschweinchenblut wenigstens mit 10, Leberbrei wenigstens mit 50 Teilen Kochsalzlösung zu verdünnen und durch 5 bis 10 Minuten langes Zentrifugieren die gröberen Formelemente zu beseitigen, fielen mit den im Handel erhältlichen Reichel-

kerzen von 5 mm Wandstärke alle Filterversuche positiv aus, während Nordtmeyer-Berkefeld-Kerzen und Chamberlandkerzen (Marke F) das Virus nicht passieren ließen (vgl. Anhang). Somit konnten bezüglich der Berkefeldkerzen die Angaben von Uhlenhuth und Fromme bestätigt werden.

Hierbei gelang es, im Bodensatz des frischen Filtrats einer allerdings sehr spirochätenreichen Leberaufschwemmung nach halbstündigem, sehr scharfem Ausschleudern in der elektrischen Zentrifuge ganz erhaltene lebende Spirochäten, wenn auch vorwiegend kürzere Formen, nachzuweisen, während die zugefügten Testbakterien von dem einwandfreien Filter, wie kulturell nachgewiesen wurde, zurückgehalten waren (Filterversuch 4), ein Beweis für die Feinheit und große Flexibilität der Spirochäten. Daß von den japanischen Untersuchern die Filtrate, mit denen ihnen in 15 von 21 Fällen positive Infektionen gelangen, für spirochätenfrei gehalten wurden, beweist noch nicht, daß sie dies wirklich waren, da der sichere Nachweis von einigen vereinzelt Spirochäten — die aber zur Tierinfektion vollkommen genügen können — in mehreren Kubikzentimetern Filtrat mit den bisherigen Mitteln unmöglich ist, zumal die Spirochäten beim Zentrifugieren oft hartnäckig suspendiert bleiben. Das Durchwandern intakter Spirochäten durch die Filterkerzen erscheint übrigens nicht verwunderlich, nachdem schon v. Es m a r c h (10) zeigen konnte, daß das erheblich dickere *Spirillum parvum* [nach Zettnow (11) 0,4—0,5 μ breit] Reichelkerzen passieren kann.

Wertvoll erscheint ferner die bei Filtrierversuch 6 gemachte Beobachtung, daß der Nachweis der Spirochäten im Filtrat durch den Kulturversuch 5 Tage früher gelang, als durch die Tierinfektion. Die Menge des passierten Virus war so gering, daß 5 bzw. 7 ccm des Filtrates Meerschweinchen erst nach 9 bzw. 11 Tagen töteten, während die mit Ausgangsmaterial infizierte Kontrolle in 5 Tagen zum Exitus kam. Kulturen nach dem Ungermannschen Verfahren, die nur mit wenigen Tropfen des Filtrates geimpft waren, gaben bereits nach 4 Tagen positiven Befund. Das Kulturverfahren, also die direkte Beimpfung der Serumröhrchen mit Patientenblut, dürfte demnach vielleicht berufen sein, den Nachweis von Spiro-

chäten beim kranken Menschen neben dem bisher ausschließlich angewandten Tierversuch zu ermöglichen bzw. zu beschleunigen.

Nachdem bereits Uhlenhuth und Fromme festgestellt hatten, daß die Spirochäten der Weilschen Krankheit in Galle zugrunde gehen, wurde ein weiterer Aufschluß über den Bau der Spirochäten von Versuchen mit Saponin und taurocholsaurem Natrium erwartet, wie sie zuerst Neufeld und v. Prowazek (12) an Hühnerspirochäten ausgeführt haben. Hierbei ergaben die Erreger der Weilschen Krankheit dieselben Befunde, wie sie für Spirochäten im Gegensatz zu Bakterien als charakteristisch angesehen werden. Ein Tropfen 10-proz. Lösung von taurocholsaurem Natrium mit einem Tropfen Spirochätenkultur auf dem Objektträger vermischt, bewirkte sofortiges Aufhören der Spirochäten-Eigenbewegung. Die Spirochäten erschienen nur noch als schattenhafte Gebilde, die sich langsam unter Hervortretenlassen stärker leuchtender Körnchen (Granula?) auflösten. Nach 1 Stunde bei 22° waren Spirochäten nicht mehr nachweisbar. Aehnliche Befunde erhielt ich mit Saponinlösungen bzw. Sapotoxin, doch waren, um ein Verschwinden der Spirochäten zu erreichen, erheblich stärkere Konzentrationen erforderlich, als von taurocholsaurem Natrium. Verdünnungen von 1 Teil Saponin mit 3 Teilen Wasser einer Serumkultur in gleichen Mengen zugesetzt, bewirkten wohl sofortige Lähmung der Beweglichkeit, ließen aber nach 3 Stunden bei 22° noch keine Auflösung der Spirochätenkörper erkennen. Ueber die Struktur der Spirochäten gaben diese Versuche jedoch keinen Aufschluß.

Anders verhielt es sich beim Experimentieren mit Rekonvaleszenten-Serum. Wie bereits die Untersuchungen von Uhlenhuth und Fromme ergeben hatten, kommt dem Serum von Rekonvaleszenten nach Weilscher Krankheit eine erhebliche Schutzwirkung im Tierversuche zu, eine Beobachtung, die auch wir bestätigen konnten, und die nach dem Vorgange Uhlenhuths und Frommes im Institut „Robert Koch“ wiederholt mit gutem Erfolg zur Sicherung der Diagnose bei zweifelhaften Fällen verwendet wurde. Es lag nun nahe, über diese Wirkung des Immunserums durch Beobachtung unter dem Mikroskop Aufschluß zu erhalten. Nachdem

festgestellt war, daß Serum von gesunden Menschen, von Luetikern, Fleckfieberkranken, Rekonvaleszenten nach Wolhynischem Fieber und anderen Krankheiten die Weil-Spirochäten nicht sichtbar beeinflusste, wurde Spirochätenkultur mit Weil-Rekonvaleszentenserum zu gleichen Teilen, teils mit, teils ohne Zusatz von Meerschweinchenkomplement gemischt, in kurzen Zwischenräumen im Dunkelfeld beobachtet und gleichzeitig Ausstrichpräparate angefertigt. Hierbei zeigte sich, daß ein Unterschied zwischen den Versuchen mit Komplement- und denen ohne Komplementzusatz nicht bestand. In beiden Versuchsreihen konnte im Dunkelfelde bereits nach 1–3 Minuten ein Aufquellen und Auffasern des Spirochätenleibes festgestellt werden.

Im weiteren Verlauf der Vorgänge wurde folgendes beobachtet: „Bereits nach 2–3 Minuten Quellung, und meist von einem Ende oder dicht davor beginnende, oft aber auch in der Mitte anfangende Auffaserung in feine, schwach leuchtende, fibrillenartige Fäserchen in der Längsrichtung der Spirochäten, dabei zuckende und schleudernde Bewegungen der Spirochäten. Nach 20 Minuten ist kaum noch eine intakte Spirochäte vorhanden, doch machen immer noch die Mehrzahl der Spirochätenreste besonders mit den Enden heftige zuckende und schleudernde Bewegungen. Das Bild ist das eines aufgesplißten Bindfadens. Auch einzelne der feinen Fibrillen machen mit ihren freien Enden derartige Schleuderbewegungen, so daß es, wenn man nicht durch fortdauernde Beobachtung sicher wäre, nur ein einzelnes Individuum vor sich zu haben, den Anschein gewinnt, als ob man es mit Inkurvationen mehrerer Spirochäten zu tun habe. Durch diese Quellung und Auffaserung erreichen die Individuen etwa die 2–3-fache Länge und 5–8-fache Dicke der normalen Spirochäten. Nach 16–18 Stunden bei 22° sind die Spirochäten in dem zur Mischung benutzten Schälchen völlig aufgelöst und verschwunden, während unter dem umrandeten Deckglas (in dem sofort nach der Mischung entnommenen Tropfen) die stark gequollenen Individuen noch erkennbar, aber jetzt unbeweglich sind. Körnchenhaufen wie in alten Kulturen sind nicht nachweisbar.“

In den bei diesen Versuchen angefertigten Giemsa-Präparaten (Tafel) zeigten sich im Beginn der Serumwirkung zunächst einzelne feinste Längsfäserchen, die sich von dem Spirochätenleib abhoben (Tafel, Fig. 1). Allmählich sieht man immer mehr Fäserchen losgelöst, die, oft sich kreuzend, wie umeinander gewunden erscheinen (Tafel, Fig. 2 u. 3). Fast immer kann man unter diesen Fibrillen eine besonders kräftig gefärbte beobachten, die zugleich die längste, am stärksten gewundene ist und die beiden, fast noch intakt erscheinenden Enden des ganzen Spirochätenrestes bildet. Diese Faser darf wohl wegen ihrer überragenden Länge als zur äußeren Peripherie der Spirochäte gehörig, auf der Außenfläche der primären Win-

dungen verlaufend angesehen werden, und ihr wohnt auch, wie die Dunkelfeldbeobachtung zeigte, die größte Bewegungsenergie inne.

Abgesehen von diesen für den Bau der Spirochäte wertvollen Aufschlüssen, kann die unmittelbare Beobachtung der Serumwirkung auf die Spirochäten im Dunkelfeld oder durch Herstellung von Giemsapräparaten in verschiedenen Abständen nach der Mischung auch ein nicht zu unterschätzendes Hilfsmittel bei der Diagnose sein, da die geschilderte Aufquellung und Auffaserung streng spezifisch zu sein scheint. Ganz dürfte diese Einwirkung in vitro den Tierversuch wohl nicht ersetzen können, immerhin aber gibt sie gute Anhaltspunkte, und, was das Wichtigste ist, die Wahrscheinlichkeitsdiagnose kann in 1—2 Stunden gestellt werden, während man beim Tierversuch 6—10 Tage warten muß.

Was nun die von Reiter (4) zuerst versuchten Uebertragungsversuche durch Insekten anlangt, so nimmt schon dieser Untersucher selbst an, daß eine Entwicklung oder Vermehrung im Leibe der als Ueberträger mit Erfolg benutzten *Haematopota pluvialis* nicht stattfindet, es sich also nur um passive Vermittelung handelt.

Diese passive Vermittlerrolle dürften nach meiner Ansicht in mehr oder weniger hohem Maße sämtliche Blutsauger spielen können. Wenigstens gelang es durch Pferdeegel (*Haemopsis vorax*), wie sie in großen Mengen unsere Teiche bevölkern, Spirochäten der Weilschen Krankheit durch den Saugakt zu übertragen:

Pferdeegel III, der kräftig am agonalen Weil-kranken Meerschweinchen gesaugt hatte, wurde 1 Stunde in fließendem Wasser gespült, um alle äußerlich etwa anhaftenden Spirochäten zu beseitigen, dann dem normalen Meerschweinchen 567 angesetzt, an dem er noch ca. 5 Minuten weiter sog. Die entstandene Saugwunde wurde verschlossen und das Tier in besonderen Käfig gesetzt. Nach 10 Tagen ging das Meerschweinchen ein mit typischem Befund und zahlreichen Spirochäten in der Leber. 24 Stunden nach dem virus-aufnehmenden Saugakte angesetzte Egel vermochten normale Meerschweinchen nicht mehr zu infizieren.

Auch durch Kleiderläuse, die am agonalen Weil-kranken Meerschweinchen gesaugt hatten, dann verrieben und einem normalen Tier intraperitoneal injiziert wurden, gelang die Infektion, doch war es weder in den Egel noch den Läusen

möglich, mit Sicherheit Spirochäten mikroskopisch nachzuweisen.

Diese Beobachtungen lassen an die Möglichkeit denken, daß durch verschiedene Blutsauger passiv, vielleicht auch mechanisch durch Einreibung infizierter Insekten beim Kratzen, eine Uebertragung stattfinden könnte. Als virus-spendende Ueberträger scheinen nach den neueren Arbeiten der genannten japanischen Autoren vielleicht die Ratten in Betracht zu kommen. So ließe es sich erklären, daß nicht nur in der heißen Jahreszeit, wie dies Hecker und Otto (13) bei Untersuchungen im Frieden bei Leuten, die in der Nähe von Gewässern zu tun hatten, fanden, sondern unter entsprechenden Verhältnissen auch in den kalten Monaten Weil-Erkrankungen gehäuft auftreten können, wie dies Uhlenhuth und Fromme (3) bei Studien während des Schützengrabenkrieges beobachtet haben, wo ja Ungeziefer und Ratten besonders im Winter, ebenso wie im Sommer an Teichen zu den unangenehmsten Plagen gehören.

Zusammenfassung.

Der von japanischen Autoren wohl zuerst gesehene und als *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* bezeichnete Erreger der Weilschen Krankheit ließ sich nach dem Ungermannschen Verfahren sowohl anaërob als auch aërob leicht züchten, ohne nach mehr als 35 Tier- und 30 Kulturpassagen seine Virulenz für Versuchstiere und Menschen einzubüßen. Die nach 10 bis 12 Kulturüberimpfungen zu beobachtende Abnahme der Pathogenität wurde durch einige Meerschweinchenpassagen schnell wiedererworben.

Die Spirochäten zeigen sehr feine, präformierte, starre „primäre“ Spiralwindungen, welche wahrscheinlich durch einen Achsenfaden gestützt werden. Die Fortbewegung geschieht durch propellerähnliche Wirkung der korkzieherartig umgebogenen Enden, sowie durch sekundäre flache Windungen oder Schängelungen.

Die Vermehrung erfolgt durch Querteilung.

Die am besten in älteren Kulturen zu beobachtenden Knospen, Granula und Körnchenhaufen werden für Degenerationsprodukte der Spirochäten angesprochen. Infektionsversuche mit nur Körnchen enthaltendem Material fielen negativ aus.

Bei Filtrierversuchen konnte festgestellt werden, daß die Spirochäten sowohl bei Verwendung von spirochätenhaltigem Meerschweinchenblut als auch von Leberbrei Reichelkerzen

regelmäßig passierten. Es empfiehlt sich jedoch, möglichst spirochätenreiches Material zu verwenden, starke Verdünnungen zu benutzen und durch Zentrifugieren die gröberen Formelemente zu beseitigen. Mit Berkefeld- und Chamberland-Kerzen fielen die Filtriersuche negativ aus. In einem Falle gelang bei Dunkelfeldbeobachtung der direkte Nachweis lebender, ganz erhaltener Spirochäten im sonst sterilen Filtrat.

Das Kulturverfahren hat sich, was die Zeitdauer anlangt, zum Nachweis von Spirochäten in sterilen Flüssigkeiten als dem Tierversuch überlegen erwiesen.

In Saponin und taurocholsaurem Natrium verhielten sich die Erreger der Weilschen Krankheit wie echte Spirochäten.

Die schützende Kraft des menschlichen Serums nach überstandener Weilscher Krankheit konnte nach dem Vorgange von Uhlenhuth und Fromme zur Diagnosestellung mehrfach mit Erfolg verwendet werden. Eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose ließ sich bereits in 1—2 Stunden stellen, wenn die Wirkung des fraglichen Serums auf Spirochätenkulturen unmittelbar mikroskopisch beobachtet wurde.

Die zuerst von Reiter durch Haematopota pluvialis mit Erfolg ausgeführte Uebertragung der Weilschen Krankheit von Tier zu Tier gelang auch durch Blutegel und Kleiderläuse.

Literaturverzeichnis.

- 1) Inada, Ido, Kaneko, Hoki und Ito, Journ. of exper. Med., Vol. 23, 1916, March, No. 3.
- 2) Hübener und Reiter, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 43; 1916, No. 1 und 5; sowie Zeitschr. f. Hyg. u. Bakt., Bd. 81.
- 3) Uhlenhuth und Fromme, Med. Klinik, 1915, No. 44, 46, 47 u. 50, sowie Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Therapie, Bd. 25, 1916, Heft 4—6.
- 4) Reiter, Deutsche med. Wochenschr., 1916, Heft 42.
- 5) Ungermann, Sitzungsber. der Med. Gesellsch. Berlin vom 23. März 1916, in Med. Klinik, 1916, p. 429.
- 6) — Hyg. Rundsch., 1917, Heft 3, p. 107, Verh. der Deutschen Gesellschaft für öffentliche Gesundheitspflege.
- 7) Gonder, in v. Prowazek, Handbuch der pathogenen Protozoen, 1916, Lief. 6.
- 8) Otto, Hyg. Rundsch., 1917, Heft 3, p. 106, Verh. der Deutschen Gesellschaft für öffentliche Gesundheitspflege.

- 9) **Meirowsky**, Med. Klinik, 1916, p. 1181.
- 10) **v. Esmarch**, Centralbl. f. Bakteriolog., I. Abt., Orig., Bd. 32, 1912, p. 561.
- 11) **Zettnow**, Centralbl. f. Bakteriolog., I. Abt., Orig., Bd. 78, 1916, Heft 1.
- 12) **Neufeld und v. Prowazek**, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 25, 1907.
- 13) **Hecker und Otto**, Veröffentlichungen aus dem Militär-Sanitätswesen, Heft 46.

Tafelerklärung.

Auffaserung der Spirochäten in Rekonvaleszenten-Serum. Gezeichnet nach Romanowski-Präparaten.

Fig. 1. Serumwirkung nach 2 Minuten.

Fig. 2. „ „ 15 „

Fig. 3. „ „ 30 „

Anhang.

Protokolle (auszugsweise) über Filtrierversuche.

- I. **Material:** Herzblut + Natrium citricum von agonalem Meerschw. 697 (reichlich spirochätenhaltig).

Verdünnung: 5 ccm Blut + 45 ccm Kochsalz.

Dauer des Zentrifugierens: 5 Min.

Testbakterienzusatz: Choleravibrionen.

Filter: Reichelkerze, 5 mm Wandstärke.

Vakuumdruck: 50–60 cm Quecksilber.

Dauer des Versuches: Nach 10 Min. abgebrochen.

Verimpft: 6. III. 1916 auf Meerschw. 509 4,0 ccm intraperitoneal.

Ergebnis: 13. III. 1916 agonal getötet; typischer Befund. Spirochäten ++++ in Leber. Kulturen auf Agar und Dieudonné: steril. (Kurve 1.)

- II. **Material:** Spirochätenkultur, 6-tägig; gewaschen in Ringerscher Lösung.

Verdünnung: 10 ccm Kultur gewaschen und mit 10 ccm Ringer aufgeschwemmt.

Testzusatz: Geflügelcholera.

Filter: Chamberlandkerze F, 2,5 mm Wandstärke.

Vakuumdruck: 60–65 cm Quecksilber.

Dauer des Versuches: 15 Min.

Verimpft: 1. V. 1916 auf Meerschw. 625 1,0 Filtrat intracardial.

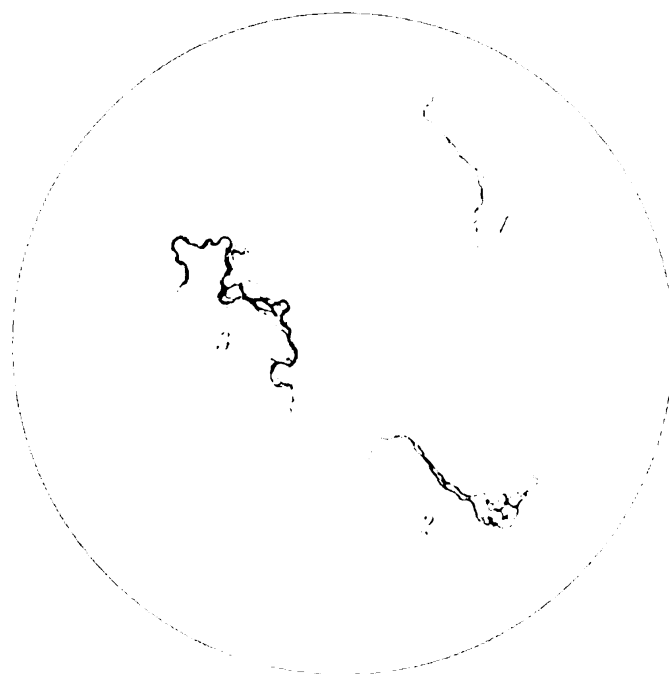
Ergebnis: 28. V. 1916 gesund. Nachgeimpft mit 1,0 Virusblut.

29. V. 1916 † aufgefunden. Anaphylaxie? Kein Weil.

Kontrolle: 1. V. 1916 Meerschw. 624 1,0 unfiltrierte Aufschwemmung.

8. V. 1916 † aufgefunden. Typischer Befund. Spirochäten +++.

Kulturen: Geflügelcholera nicht im Filtrat nachgewiesen.



III. **Material:** Leberaufschwemmung Meerschw. 656, 29. IX. 1916 tot aufgefunden. (Spirochäten ++; Mischinfektion, paratyphusähnliche Stallseuche.)

Verdünnung: 1:100 Kochsalzlösung.

Zentrifugiert: 5 Minuten.

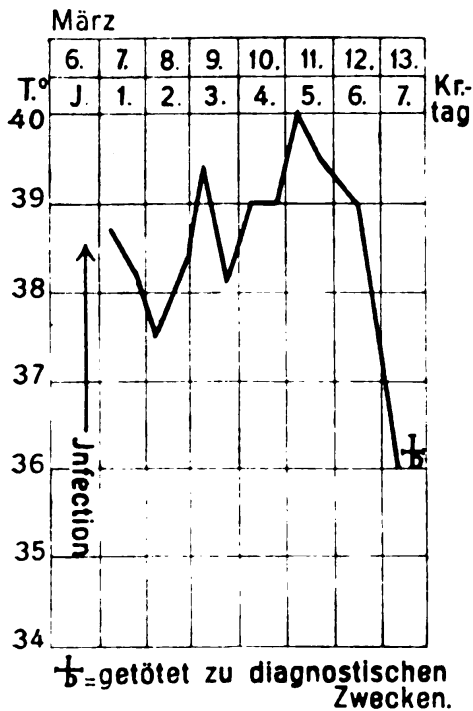
Testzusatz: Pyocyaneus.

Filter: a) Berkefeld-Nordmeyer-Kerze, 10 mm Wandstärke.

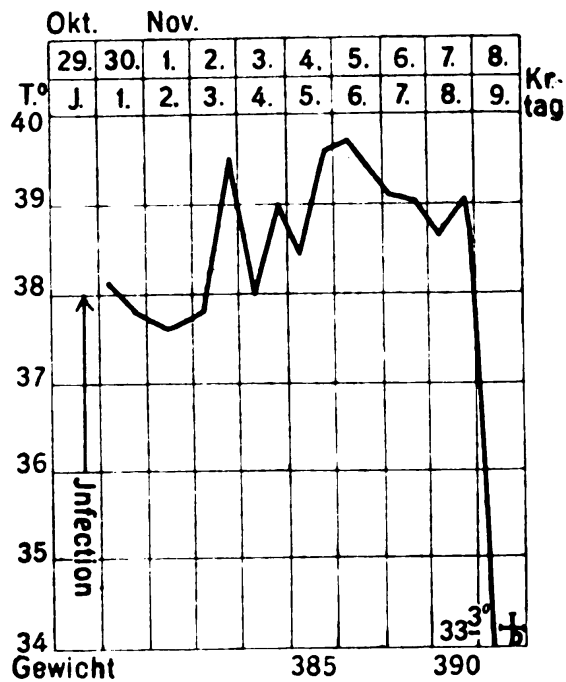
b) Reichel-Kerze, 5 mm Wandstärke.

Vakuumdruck: zu a) 60 cm Hg.

zu b) 70 cm Hg.



Kurve 1.



Kurve 2.

Dauer des Versuches: bei a) und b) nach 15 Minuten abgebrochen.

Verimpft: am 29. IX. 1916 von a) auf Meerschw. 658 5 ccm ip.

auf Meerschw. 659 10 ccm ip.

von b) auf Meerschw. 660 10 ccm ip.

Kulturen: Am 1. X. auf Agar und Drigalski steril.

Ergebnis: Meerschw. 658 } 18. X. leben, gesund.

„ 659 }

„ 660 8. X. agonal getötet; typischer Befund.

Spirochäten + + +. (Kurve 2.)

„ 658 und 659 am 18. X. nachgeimpft mit Leber-

brei von 665.

am 25. X. †, typischer Befund.

Kontrolle: Meerschw. 657 29. IX. 2,0 Leberaufschwemmung vor dem Filtrieren.

30. IX. † Peritonitis (da Leber 656 durch Meerschw.-pathogene paratyphus-ähnliche Stäbchen verunreinigt war; siehe oben).

Bemerkung: Der mikroskopische Nachweis von Spirochäten im zentrifugierten Filtrat gelang nicht.

IV. Material: Leberaufschwemmung von Meerschw. 665, 18. X. 1916 tot aufgefunden (Spirochäten + + + +).

Verdünnung: 1 : 50 Kochsalzlösung.

Zentrifugiert: 10 Minuten. (Im ziemlich klaren Zentrifugat oben 15—20 Spirochäten im Gesichtsfeld.)

Testzusatz: Pyocyaneus.

Filter: Reichelkerze.

Vakuum: 60 cm Hg.

Dauer des Versuches: 10 Minuten.

Verimpft: 18. X. 1916 auf Meerschw. 669 10,0 ccm Filtrat ip.

Ergebnis: 24. X. 1916 Meerschw. 669 †, typischer Befund. Spirochäten + + + in Leber.

Kulturen: Agar steril. 20. X. 1916.

Bemerkung: Der Rest des Filtrates wird $\frac{1}{2}$ Stunde scharf in der elektrischen Zentrifuge geschleudert. Im Bodensatz durch Dunkelfelduntersuchung gut bewegliche ganze Spirochäten nachgewiesen.

Kontrolle: Meerschw. 668 18. X. 1916 2,0 Aufschwemmung vor dem Filtrieren.

25. X. 1916 †, typischer Befund. Spirochäten + + + in Leber.

V. Material: Leberaufschwemmung von Meerschw. 668, 25. X. 1916 tot aufgefunden. Spirochäten + + +.

Verdünnung: 1 : 50 Kochsalzlösung.

Zentrifugiert: 10 Minuten.

Testzusatz: Pyocyaneus.

Filter: Chamberland F.

Vakuum: 60 cm Hg.

Dauer: 15 Minuten.

Verimpft: 25. X. 1916 auf Meerschw. 670 10,0 ccm Filtrat ip.

Ergebnis: 11. XI. 1916 Meerschw. 670 lebt, gesund.

Kulturen: Agar steril. 27. X. 1916.

Kontrolle: 25. X. 1916 Meerschw.: Nase rot (nicht numeriert) 1,0 unfiltriertes Zentrifugat ip.

30. X. 1916 Meerschw.: Nase rot †, typischer Befund.

VI. Material: Leber von Meersch. 558, 8. II. tot aufgefunden. [Spirochäten +, Mischinfektion (Pneumonie).]

Verdünnung: 1:100.

Zentrifugiert: 10 Minuten.

Testzusatz: nicht verfolgt, da sich die Leber 558 stark durch Stäbchen und Kokken verunreinigt erwies (Pneumonie).

Filter: Reichelkerze.

Vakuumdruck: 60—65 cm Hg.

Dauer: 10 Minuten.

Verimpft: 8. II. 1917 auf Meersch. 563 7,0 ccm ip.

„ „ 564 5,0 „ ip.

Ergebnis: 17. II. 1917 Meersch. 563 †, typischer Befund. Spirochäten ++ in Leber.

19. II. 1917 „ 564 †, typischer Befund. Spirochäten + in Leber.

Kulturen: Agar 12. II. 1917 steril.

Kaninchenserum unter Paraffin (beschickt mit je 3 Tropfen Filtrat) reichliches Spirochätenwachstum 12. II. 1917.

Kontrollen: Meersch. 565 8. II. 1917 0,5 Leber 558, 1:100 intracardial.

13. II. 1917 †, typischer Befund.

„ 569 22. II. 1917 0,5 ccm Kultur aus Leber Filtrat 558.

27. II. 1917 †, typischer Befund. Spirochäten ++ in Leber.

Bemerkung: Der mikroskopische Nachweis von Spirochäten im zentrifugierten Filtrat gelang nicht.

Nachdruck verboten.

[Aus der Dermatologischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Karl Herxheimer).]

Ueber die Zerstörung der Extraktfunktion bei der Wassermannschen Reaktion durch Cobragift.

II. Mitteilung.

Der Einfluß des Calciumchlorids auf die Zerstörung der Extrakt- funktion durch Cobragift.

Von Dr. **Ernst Nathan**,
Assistenten der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. März 1917.)

In einer vorangehenden Mitteilung konnte ich im Anschluß an die Angaben von Hirschfeld und Klinger¹⁾, denen zufolge alkoholischer Herzextrakt durch Behandeln mit Cobragift seine Fähigkeit verliert, mit syphilitischem Serum unter Komplementbindung zu reagieren, zeigen²⁾, daß diese extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes sich der lecithinspaltenden Funktion des Cobragiftes analog verhält. Die extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes entfaltete nämlich sowohl bei 37° als auch bei 0° ihre Wirksamkeit, sie wurde durch halbstündiges Erwärmen im Wasserbad auf 100° nicht zerstört und durch Cholesterin in ihrer Wirksamkeit gehemmt. Es erschien daher am naheliegendsten, die beiden erwähnten Funktionen des Cobragiftes zu identifizieren und für die extraktzerstörende Wirkung des Cobragiftes die in ihm enthaltene Lecithinase verantwortlich zu machen.

Bei diesen Analogien erschien es nun von Interesse, auch noch den Einfluß des Calciumchlorids auf die Extraktzerstörung durch Cobragift zu analysieren, nachdem Kudicke und Sachs³⁾ im Anschluß an ältere Angaben von Delezenne

1) L. Hirschfeld und R. Klinger, Biochem. Zeitschr., Bd. 70, 1915, p. 398.

2) E. Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, p. 154.

3) R. Kudicke und H. Sachs, Biochem. Zeitschr., Bd. 76, 1916, p. 359.

und Ledebt¹⁾ in einer neuerdings erschienenen Mitteilung gezeigt haben, daß das Calciumchlorid in gewissen Konzentrationen die fermentative Funktion des Cobragiftes in erheblichem Grade zu begünstigen vermag. Ueber die Resultate dieser Versuche möchte ich mir im folgenden kurz zu berichten erlauben.

Zu den Versuchen dienten 1-proz. Stammlösungen von Cobragift²⁾, als Blutkörperchen Hammelblut in 7—8-proz. serumfrei gewaschener Suspension, als Ambozeptor inaktivierte Immunsera in 4—6-fach lösender Dosis, die durch Immunisierung von Kaninchen mit Hammelblut gewonnen worden waren. Als Calciumsalz wurde Calciumchlorid verwandt, das in physiologischer Kochsalzlösung gelöst war.

Als Extrakt diente ein alkoholischer Rinderherzextrakt, der nach den Angaben von H. Sachs³⁾ durch geeigneten Cholesterinzusatz verstärkt worden war. Der Extrakt wurde zum Gebrauch mit physiologischer Kochsalzlösung derart verdünnt, daß die Kochsalzlösung langsam unter ständigem Umschütteln tropfenweise der notwendigen vorher abgemessenen Extraktmenge zugesetzt wurde [fraktionierte Verdünnung nach Sachs und Rondoni⁴⁾]. Bei den Versuchen wurde der Extrakt auf die angegebene Weise 6-fach verdünnt und in der Menge von 0,25 ccm verwandt.

Bei der Anstellung der Wassermannschen Reaktion wurde sowohl das syphilitische Menschenserum wie das als Komplement dienende Meer-schweinchenserum in 10-facher Verdünnung in der Menge von 0,25 ccm verwandt.

Der Grad der Hämolyse ist in den Tabellen folgendermaßen notiert: k = komplette, fk = fast komplette, st = starke, m = mäßige, w = wenig, Sp = Spur, Spch = Spürchen, 0 = keine Hämolyse.

Zur Demonstration der begünstigenden Wirkung des Calciumchlorids wurde folgendermaßen verfahren:

Absteigende Mengen Cobragift werden mit je 0,25 ccm 6-fach verdünnten alkoholischen Extrakts in je drei parallelen Reihen unter Zusatz von

- a) 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung,
- b) 0,2 „ 1-proz. Calciumchloridlösung in physiol. Kochsalzlösung,
- c) 0,2 „ 0,1-proz. „ „ „ „

in 7 parallelen Gruppen 1 Stunde bei 37° im Brutschrank digeriert.

Sodann erfolgte in jeder Gruppe Zusatz von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten syphilitischen Serums und je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meer-schweinchenserums.

1) Delezenne et Ledebt, Compt. rend., T. 155, 1912, p. 1101; vgl. auch ebenda T. 152, 1911, p. 790, und T. 153, 1911, p. 81.

2) Ich möchte nicht verfehlen, Herrn Prof. H. Sachs auch an dieser Stelle für die gütige Ueberlassung der nötigen Cobragiftmenge meinen besten Dank auszusprechen.

3) H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 46.

4) H. Sachs und P. Rondoni, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 44.

Nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° erfolgte Zusatz eines hämolytischen Immunserrums und Hammelbluts (Gesamtvolumen 1,45 ccm).

Unter Ansetzung dieser drei parallelen Reihen wurden im ganzen 7 Sera im Versuch angesetzt.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle I.

Tabelle I.

		Hämolyse von Hammelblut																				
Menge der 1-proz. Cobragift- Lösung	ccm	Luesserum I			Luesserum II			Luesserum III			Luesserum IV			Luesserum V			Luesserum VI			Luesserum VII		
		a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
		NaCl	CaCl ₂ 1%	CaCl ₂ 0,1%	NaCl	CaCl ₂ 1%	CaCl ₂ 0,1%	NaCl	CaCl ₂ 1%	CaCl ₂ 0,1%	NaCl	CaCl ₂ 1%	CaCl ₂ 0,1%	NaCl	CaCl ₂ 1%	CaCl ₂ 0,1%	NaCl	CaCl ₂ 1%	CaCl ₂ 0,1%	NaCl	CaCl ₂ 1%	CaCl ₂ 0,1%
1/32	0,2	0	k	Sp	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
1/64	0,2	0	k	0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
1/128	0,2	0	k	0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
1/256	0,2	0	k	0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	Sp	k	k
1/512	0,2	0	w	0	m	k	k	Spch	k	st	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
1/1024	0,2	0	Sp	0	Sp	k	k	0	k	Sp	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	0	k	0
1/2048	0,2	0	Spch	0	0	k	k	0	k	Spch	Sp	k	k	Sp	k	k	fgk	k	k	0	m	0
1/4096	0,2	0	0	0	0	fk	0	0	Sp	0	0	fk	0	0	k	Sp	Sp	k	k	0	Sp	0
1/8192	0,2	0	0	0	0	Spch	0	0	0	0	0	k	0	0	fgk	Spch	0	k	k	0	0	0
1/16384	0,2	0	0	0	0	Spch	0	0	0	0	0	m	0	0	w	Spch	0	st	m	0	0	0
1/32768	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp	0	0	Sp	0	0	st	Spch	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Der Versuch zeigt, daß zunächst bei einem Serum (Serum I) in Reihe a ohne Calciumzusatz überhaupt keine Zerstörung der Extraktfunktion eingetreten ist; denn der Extrakt vermochte zusammen mit dem syphilitischen Serum zu totaler Komplementbindung zu führen, wie die völlige Hemmung der Hämolyse beweist. Dagegen ist in der Reihe b, bei der der Versuch unter Zusatz von 1-proz. Calciumchloridlösung angestellt worden ist, eine sehr erhebliche Zerstörung des Extrakts erfolgt; denn wie die bis 1/256 der Cobragiftverdünnung reichende hämolytische Zone zeigt, ist die Komplementbindung bis zur genannten Cobragiftverdünnung ausgeblieben, die komplementbindende Funktion des Extrakts also zerstört worden. Dagegen ist in der Reihe c, in der der Versuch unter Zusatz von 0,1-proz. Calciumchloridlösung angestellt worden ist, die Zerstörung des Extrakts wieder aus-

geblieben, und es ist infolgedessen zu völliger Komplementbindung gekommen.

Bei allen anderen untersuchten Sera ist schon in denjenigen Reihen, in denen der Extrakt mit Cobragift allein ohne Zusatz von Calciumchlorid digeriert wurde, eine Zerstörung der Extraktfunktion eingetreten, wie das Ausbleiben der Komplementbindung in den Reihen a der Sera II—VII zeigt. Dagegen hat der Zusatz der 1-proz. bzw. der 0,1-proz. Calciumchloridlösung zu einer erheblichen Verstärkung der Extraktzerstörung geführt; denn wie ein Vergleich der Reihen a der einzelnen Sera mit den Reihen b und c zeigt, ist bei den letzteren unter dem Einfluß des Calciumchloridzusatzes die Hämolyse der Hammelblutkörperchen durch das hämolytische Immunsérum und Komplement noch bei wesentlich geringeren Cobragiftverdünnungen eingetreten als in den Reihen a. Das Cobragift vermochte also unter dem Einfluß des Calciumchlorids noch in wesentlich geringerer Konzentration als ohne diesen Zusatz zu einer Zerstörung der komplementbindenden Funktion des Extrakts zu führen. Zur besseren Uebersicht stelle ich die geringsten, die Extraktfunktion noch völlig aufhebenden Cobragift Dosen ohne und mit Zusatz von Calciumchlorid in einer besonderen Tabelle zusammen.

Tabelle II.

Serum No.	Minimale, die Extraktfunktion völlig zerstörende Cobragift- konzentration		
	a allein	b unter Zusatz von 0,2 ccm 1-proz. CaCl_2 -Lösung	c unter Zusatz von 0,2 ccm 0,1-proz. CaCl_2 -Lösung
II	1/256	1/2048	1/2048
III	1/256	1/2048	1/256
IV	1/512	1/8192	1/2048
V	1/1024	1/4096	1/4096
VI	1/1024	1/8192	1/8192
VII	1/128	1/1024	1/512

Die Tabelle zeigt mit großer Deutlichkeit, daß unter dem Einfluß des Calciumchlorids wesentlich geringere Mengen des Cobragiftes zu einer völligen Extraktzerstörung ausreichen als ohne einen derartigen Zusatz, daß also, mit anderen Worten, das Calciumchlorid die fermentative Cobragiftfunktion auch hin-

sichtlich der extraktzerstörenden Komponente in erheblichem Grade zu verstärken vermochte, wie es für die hämolytische Wirkung schon durch die Untersuchungen von Kudicke und Sachs erwiesen worden war. Es entspricht also auch in dieser Beziehung die extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes völlig der hämolytischen Funktion, wie ich es bereits in meiner ersten Arbeit hinsichtlich der Wirksamkeit der beiden Funktionen bei 37° und bei 0°, ihrer Thermostabilität und ihrer Hemmung durch Cholesterin gezeigt habe.

Es war nun gegenüber dem mitgeteilten Versuchsbeispiel noch der Einwand möglich, daß die stärkere Zerstörung des Extrakts nur eine scheinbare war. Zwar hatte ich in meiner ersten Arbeit schon den gegenüber der von Hirschfeld und Klinger befolgten Versuchsanordnung möglichen Einwand ausgeschlossen, daß durch das Zusammenwirken von Cobragift mit Extrakt bzw. von Cobragift mit Meerschweinchenserum hämolytische Funktionen resultierten, die trotz eingetretener Komplementbindung eine Lösung der roten Blutkörperchen vermittelten und dadurch den von Hirschfeld und Klinger beobachteten negativen Ausfall der Wassermannschen Reaktion nur vortäuschten. Immerhin war es nötig, auch bei den Versuchen mit Calciumchlorid den gleichen Einwand zu berücksichtigen, zumal ja Kudicke und Sachs bereits gezeigt haben, daß der Calciumchloridzusatz auch die hämolytische Funktion des Cobragiftes in erheblichem Grade zu steigern vermag.

Um die Interferenz einer durch Calciumchlorid vermittelten hämolytischen Cobragiftwirkung auszuschließen, wurde derart verfahren, daß die Versuchsreihen ohne Calciumchlorid sowie unter Zusatz von 1-proz. und 0,1-proz. Calciumchloridlösung mehrfach angesetzt wurden, und zwar einerseits unter Verwendung von aktivem und inaktivem Meerschweinchenserum, andererseits mit und ohne Zusatz von Immuns serum im hämolytischen System, wie es das folgende Versuchsbeispiel demonstriert.

Absteigende Mengen einer 1-proz. Cobragiftlösung werden mit je 0,25 ccm 6-fach verdünnten Extrakts unter Zusatz von

- a) 0,2 ccm NaCl-Lösung,
- b) 0,2 „ einer 1-proz. Calciumchloridlösung,
- c) 0,2 „ einer 0,1-proz. Calciumchloridlösung

in 5 parallelen Teilen angesetzt. In einem 6. Teil (Kontrollreihe) werden in analoger Weise absteigende Mengen Cobragiftes mit je 0,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung gemischt.

Nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° erfolgt Zusatz von

in Teil A: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Luesserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes aktives Meerschweinchenserum;

in Teil B: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Luesserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes inaktives Meerschweinchenserum;

in Teil C: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Luesserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes aktives Meerschweinchenserum;

in Teil D: je 0,25 ccm 10-fach verdünntes Luesserum und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes inaktives Meerschweinchenserum;

in Teil E: je 0,5 NaCl-Lösung;

in Teil F (Kontrollreihe): je 0,25 ccm NaCl und je 0,25 ccm 10-fach verdünntes aktives Meerschweinchenserum.

Nach 1-stündiger Bindungszeit im Brutschrank bei 37° erfolgt in Teil A und B Zusatz von Hammelblutkörperchen und hämolytischem Immunserum, in Teil C, D, E und F Zusatz von Hammelblutkörperchen und der entsprechenden Menge Kochsalzlösung.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle III.

Tabelle III.

Menge der 1-proz. Cobragift- lösung		Hämolyse von Hammelblut																	
		A			B			C			D			E			F Kontrollreihe		
		a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		NaCl	CaCl ₂ 1 %	CaCl ₂ 0,1 %	NaCl	CaCl ₂ 1 %	CaCl ₂ 0,1 %	NaCl	CaCl ₂ 1 %	CaCl ₂ 0,1 %	NaCl	CaCl ₂ 1 %	CaCl ₂ 0,1 %	NaCl	CaCl ₂ 1 %	CaCl ₂ 0,1 %	NaCl	CaCl ₂ 1 %	CaCl ₂ 0,1 %
ccm	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
1/84	0,2	k	k	k	0	0	0	Spch	0	Sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/178	0,2	k	k	k	0	0	0	0	0	Spch	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/356	0,2	k	k	k	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/512	0,2	Spch	k	k	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/1024	0,2	0	k	w	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/2048	0,2	0	m	Spch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/4096	0,2	0	Spch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie Teil A der Tabelle zeigt, ist in Reihe a eine deutliche Zerstörung der Extraktfunktion eingetreten, die durch den Zusatz von Calciumchlorid (Reihe b und c) eine erhebliche Verstärkung erfahren hat. Bei dieser Hämolyse kann es sich nur um eine durch Ausbleiben der Komplementbindung

verursachte Hämolyse der roten Blutkörperchen durch den hämolytischen Ambozeptor und das Komplement des aktiven Meerschweinchenserums nach Zerstörung der bindenden Extraktfunktion durch Cobragift handeln; denn diese hämolytische Zone fehlt einerseits in denjenigen Reihen, die kein aktives, sondern nur inaktives Meerschweinchenserum (Teil B) bzw. keinen Ambozeptor enthalten (Teil C und D), sie fehlt andererseits auch in denjenigen Reihen, die nur Cobragift und Extrakt (Teil E) bzw. nur Cobragift und aktives Meerschweinchenserum (Teil F) enthalten. Es ergibt sich daraus also mit Notwendigkeit, daß die erwähnten hämolytischen Zonen in Teil A der Tabelle nicht auf hämolytischer Cobragiftwirkung bzw. deren Verstärkung durch Calciumchloridzusatz beruhen können, sondern eine durch Ambozeptor-Komplement-Wirkung vermittelte Hämolyse infolge Ausbleibens der Komplementbindung durch Aufhebung der Extraktwirkung darstellen.

Zusammenfassung.

Die mitgeteilten Versuche ergaben, daß das Calciumchlorid nicht nur die hämolytische, sondern auch die extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes in erheblichem Grade zu verstärken vermag. Dabei zeigte sich, daß sogar bei Verwendung von Sera, bei denen eine Extraktzerstörung überhaupt nicht nachweisbar war, der Zusatz von Calciumchlorid ebenfalls zu einer experimentell nachweisbaren Extraktzerstörung führte, und daß außer den in meiner ersten Arbeit bereits entwickelten Momenten, die für das Ausbleiben der Extraktzerstörung unter Verwendung gewisser Sera verantwortlich zu machen sind, anscheinend auch der differente Gehalt der Sera an Calciumsalzen bzw. Verschiedenheiten in der Bindung der Calciumsalze eine bedeutsame Rolle spielen dürften. Man wird in der Annahme wohl nicht fehlgehen, daß geradeso, wie es Kudicke und Sachs für die hämolytische Lecithinspaltung supponiert hatten, auch für die Extraktzerstörung die Wirkung der Kalksalze darin besteht, daß sie durch Entfernung der frei werdenden Fettsäuren als unlösliche Kalkseifen aus dem Reaktionsgemisch die den Funktionsverlust des Extrakts bedingende Fettsäureabspaltung begünstigen. (G. C.)

*Nachdruck verboten.***Ueber Anaphylaxie.**Von Stadttierarzt Dr. **Rössle** in Ulm.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. März 1917.)

In den letzten Jahren haben sich die Ansichten über das Zustandekommen des anaphylaktischen Shocks insoweit geklärt, daß man als sicher annimmt, daß diese Erscheinungen zweifellos auf parenteralen Verdauungsvorgängen von Eiweißstoffen beruhen. Man geht dabei davon aus, daß zum Zustandekommen des Shocks zwei Stoffe nötig sind: 1) das Antigen („Sensibiligen“ oder „Anaphylaktogen“), 2) der dazu gehörige Antikörper („Reaktionskörper“ oder „anaphylaktischer Immunkörper“), und daß bei diesen Vorgängen im Körper die vasomotorischen Zentren stark beteiligt sind bzw. stark gereizt werden, was durch ein Gift („Anaphylatoxin“) verursacht sein soll, welches sich bei der Vereinigung des Antigens mit dem Antikörper bildet.

Wenn die Symptomatologie des anaphylaktischen Shocks bei ein und derselben Tiergattung unter völlig gleichen Verhältnissen keine großen Verschiedenheiten bildet, so ist dies um so mehr der Fall bei Tieren verschiedener Gattung. — Beim einzelnen Tier ist die Wirkung verschieden, wenn wir die Injektion zum Hervorrufen des Shocks intraperitoneal, intracerebral oder intravenös vornehmen; die letztere Art ruft bekanntlich die heftigsten bzw. oft tödliche Erscheinungen hervor. — Gemeinsam haben die anaphylaktischen Erscheinungen (mit der Peptonvergiftung) stets im Beginn mehr oder weniger intensive Blutdruckbeeinflussung (-senkung); regelmäßig findet man dann weiter eine Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes; der allgemeine Zustand des Tieres ist dabei so, daß entweder Müdigkeit und Schläfrigkeit oder krampfartige Zustände vorherrschen; in vielen schweren anaphylaktischen Fällen tritt starker Temperatursturz und

Leukopenie auf; beim Meerschweinchen: Atemnot (Lungenblähung, Zerreißen der Alveolarwände, Krampf der Bronchiolmuskeln), beim Hund: hochgradige Darmerscheinungen (Durchfälle mit Blut, Tenesmus, Erbrechen usw.). Diese Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks lassen sich nun bekanntermaßen bei Impftieren nicht hervorrufen, wenn z. B. das aktiv oder passiv sensibilisierte Meerschweinchen eine Injektion einer 1-proz. Kochsalzlösung erhalten hat, oder wenn man dem Tierchen eine sonst tödliche Dosis in der Aether- oder Chloräthylnarkose injiziert hat, oder wenn man eine zu starke Serummenge einspritzt.

Die Anaphylaxie wird ja in ihren Erscheinungen und klinischen Formen allgemein übereinstimmend geschildert. Neben der Serumanaphylaxie gibt es bekanntlich verschiedene Krankheiten, die ebenfalls auf anaphylaktischen Vorgängen, d. h. auf einer Empfindlichkeit des Körpers gegen Eiweißstoffe beruhen; ich verweise 1) auf die Erscheinungen bei manchen Menschen nach Behandlung mit artfremdem Serum (Pferd), die man als „Allergie“ bezeichnet; 2) auf die Empfindlichkeit des Körpers gegen körpereigenes Eiweiß: a) Bluttransfusion unter Verwendung arteigenen Blutes, b) Zustandekommen der Ermüdung (Kenotoxin); 3) auf die Empfindlichkeit des Körpers gegen Cytotoxine (Eklampsie); 4) auf die Anaphylaxie gegen bestimmte Medikamente, Nahrungs- und Genußmittel (Idiosynkrasie) usw.

Bis jetzt ist nun die Wissenschaft in der Erklärung des Zustandekommens der stürmischen bzw. tödlichen Krankheitserscheinungen der Anaphylaxie über die Annahme einer starken Einwirkung auf die vasomotorischen Zentren noch nicht hinausgekommen; sie konnte sich deshalb auch die schweren bzw. tödlichen Erkrankungen nicht richtig erklären.

Anläßlich eingehender Studien, die ich über die Gebärpause des Rindes anstellte, fand ich nun in der Literatur allgemein die Ansicht vertreten, daß diese Krankheit auch auf anaphylaktischen Vorgängen beruhe, beginnend mit einer Reizung bzw. einem Kollaps der vasomotorischen Zentren. Zur Aufklärung der Auslösung der schweren bzw. tödlichen Krankheitserscheinungen verglich ich nun eingehend das klinische Bild, das Sektionsbild und die in letzter Zeit von

den Tierärzten gegen die Krankheit mit gutem Erfolg geübte Behandlungsmethode des Lufteinblasens ins Euter, wobei sogar die schwersten Fälle zur Heilung gelangen. Ich stellte dabei fest, daß diese Krankheit mit der Erscheinung einer Schädigung der vasomotorischen Zentren beginnt, und versuchte nun, mir klar zu machen, warum gegen die zum Schluß schweren Krankheitserscheinungen in lebensrettender Weise Lufteinblasen hilft. Wie ich in einer Abhandlung darüber in der Deutschen tierärztlichen Wochenschrift ausführte, ist das wirksame Agens dabei allein der Sauerstoff der Luft, während die schwere Erkrankung letzten Endes in einer Kohlensäurevergiftung des Körpers beruht. Die Erklärung, wie es nun durch Reizung der vasomotorischen Zentren zum Schluß zur Kohlensäurevergiftung kommt, lege ich mir in nachstehender Weise zurecht: Die vasomotorischen Zentren, die durch Erregung der Constrictoren oder Dilatatoren einen weitgehenden Einfluß auf den ganzen Zirkulationsvorgang ausüben, können, wenn sie ein Reiz trifft, in der einen oder anderen Weise reagieren. Es ist schon durch die Physiologie nachgewiesen, daß ein Reiz, der diese Zentren trifft, zu einer Kontraktion der mittleren und kleineren Arterien führt; infolge dieser Verengerung nimmt die Geschwindigkeit des Blutlaufs ab, und es steigt der Blutdruck in den größeren Gefäßen; es kommt 1) zu einer leichten Stauung des Blutes und 2) zu einer mangelhaften Blutversorgung der Gewebe und Organe; sie werden blaß. Durch diese Veränderung in der Blutzirkulation ist es bedingt, daß der Tierkörper nicht in richtiger Weise von der CO_2 gesäubert wird; es kommt zu einer geringgradigen Anschoppung von CO_2 im Körper. Durch das physiologische Experiment von Dastre und Morat ist nun nachgewiesen, daß eine Anhäufung von CO_2 im Blut in der Weise auf die vasomotorischen Zentren wirkt, daß die Gefäße der Haut (Euter) und Muskulatur kontrahiert und die Gefäße der inneren Organe (Leber, Nieren, Därme, Milz, Gehirn etc.) erweitert werden; es besteht ein Antagonismus dieser Gefäßnerven. (Daß bei der Gebärpause eine Erweiterung der inneren und eine Zusammenziehung der Gefäße der Haut und der Muskeln erfolgt, zeigt sich am deutlichsten am klinischen Bild und bei der Obduktion.) Infolge dieser Veränderung im Kreis-

lauf und der durch die Zusammenziehung der Muskelgefäße erschwerten Tätigkeit der Brustmuskeln bei der Atmung steigt die CO_2 -Anhäufung noch mehr; in den inneren Organen sind die Arterien und Venen erweitert, der Gefäßtonus sinkt (Blutdruck und Temperatur sinkt). Der Herzschlag wird dabei beschleunigt, weil das Herz die im Gefäßsystem bestehenden Widerstände beseitigen will; der Puls wird unregelmäßig, und es kann (wie wir bei der Sektion sehen) in Leber, Nieren und Gehirn infolge der Verstopfung der Kapillaren zur multiplen Kapillarthrombose kommen. Damit wird dann die CO_2 -Anhäufung lebensgefährlich, es kommt zur Dyspnoë und eventuell zum asphyktischen Tod.

Wenn wir den Vorgang im Tierkörper in dieser kurz geschilderten Weise als tatsächlich annehmen, dann fragt es sich weiterhin: was ist das nun bei diesen Krankheiten für ein Reiz, der gerade hier als erregend auf die vasomotorischen Zentren wirkt? Dafür habe ich folgende Erklärung gefunden: Die durch die Verdauung dem Blut zur weiteren Ernährung des Körpers zugeführten Eiweißkörper müssen, wenn dies möglich sein soll, im Blut in Lösung bleiben; wie aber aus der Chemie der Eiweißkörper bekannt ist, bleiben Eiweißkörper, die zum größten Teil Säuren sind, bloß in alkalischen oder neutralen Flüssigkeiten in Lösung; wenn nun bei der Verdauung übermäßig viel, eventuell nicht ganz abgebautes Eiweiß nach Passieren der Leber in das Blut gekommen ist, dann wird die Menge der Alkalien und neutralen Alkalisalze des Blutes nicht mehr ausreichen, um die eingeführten Eiweißmassen in Lösung zu erhalten; infolgedessen kommt es zu einer mehr oder weniger starken Ausfällung der Eiweißkörper. (Aehnlich dem Vorgang, wenn man Blutplasma in einen Pergamentschlauch füllt und in destilliertes Wasser stellt; nach kurzer Zeit wird die vorher ganz klare gelbliche Flüssigkeit flockig getrübt: die Salze, welche das Globulin des Plasmas in Lösung gehalten haben, sind zum Wasser diffundiert, so daß das Globulin nunmehr ausfallen mußte.) Damit bekommt die Blutflüssigkeit naturgemäß eine Veränderung ihrer Viskosität und eine kolloide Beschaffenheit (und es treten im Blute neue Eiweißkörper auf). Diese Veränderung des Flüssigkeitszustandes des Blutes bietet natürlich der Strömung einen

Widerstand, der sich besonders in den mittleren und kleineren Arterien (und Kapillaren) geltend macht; auf ganz natürliche Weise erfolgt deshalb eine entgegenwirkende Kontraktion dieser Gefäße; damit steigt der Blutdruck (Puls wird langsamer, Blutdruck höher).

So haben wir den hier vorliegenden Reiz, der zuerst auf die vasomotorischen Zentren einwirkt.

Indem ich mir in der eben angeführten Weise die Krankheitserscheinungen der Gebärpause erkläre, die eigentlich bloß bei Tieren mit überreicher Eiweißernährung und daraus folgender Ueberschwemmung des Blutes mit Eiweißstoffen vorkommt, habe ich zugleich das Wesen und die Entstehung der Anaphylaxie, die auch auf Zustandsänderungen der Kolloide des Blutes beruht, erklärt. Ihrer Entstehung, dem klinischen und dem Sektionsbild nach gehört auch die Eklampsie zu den anaphylaktischen Vorgängen, worauf ich später noch zurückkommen werde.

Nach Fertigstellung dieser Arbeit über Gebärpause stieß ich in der Literatur auf eine Veröffentlichung in der Münch. med. Wochenschr., 1912, No. 49 von Dr. Traube, welcher den anaphylaktischen Vorgang ebenfalls als einen Gerinnungsvorgang bezeichnet; er schreibt:

„Die Kolloide haben im Gegensatz zu den Nicht-Kolloiden die Fähigkeit, sich in Lösungen in mannigfachster Weise zu aggregieren und anzuordnen. Die ultramikroskopischen Untersuchungen von Dr. Mayer haben gezeigt, daß unter dem Einfluß kleinster Säure- oder Salzzusätze die Eiweißteilchen im Blutplasma zu 2, 3, 5 und 6 Teilchen sich verketteten, zu Häufchen und Netzwerken zusammentreten. — Charakteristisch für eine Kolloidlösung ist die Fähigkeit und Leichtigkeit der Zustandsänderung der gelösten Kolloide, sobald die Lösung irgendeine noch so kleine stoffliche Aenderung erfährt; setzen wir z. B. zu einer Lösung von Kolloiden z. B. Blutplasma anstatt eines Salzes irgendein neues Kolloid, so gruppieren sich sofort die Kolloidteilchen im Blut, welche entgegengesetzt elektrisch geladen sind, in anderer Weise.

Für alle physikalischen Gleichgewichtsänderungen ist charakteristisch, daß nicht nur die Art des chemischen Zusatzes, sondern auch dessen Menge den Gleichgewichtszustand in hohem Maße beeinflußt. Setzen wir zu der wässrigen Lösung eines basischen Farbstoffs einen sauren Farbstoff, so kommt es häufig vor, daß nur bei einem ganz bestimmten, eng begrenzten mittleren Konzentrationsverhältnis eine Fällung eintritt; ebenso unterscheiden wir ganz bestimmte Fällungszonen oder Maxima der Fällung beim Zusatz von Salzlösungen zu Lösungen von Eiweiß.“

Diese Ausführungen Traubes bilden gewissermaßen den Beweis für die Richtigkeit meiner oben angeführten Theorie; Traube erklärt uns die Vorgänge, die wir seither nur als chemisches Endresultat (Fällung) sahen, wie sie sich bei der ultramikroskopischen Untersuchung abspielen und wie sie bis zu dem chemischen Vorgang der Fällung (Zustandsänderung) führen. Traube weist dabei neben dem Einfluß chemischer Wirkungen auf die physikalischen Einflüsse: Spannungsverhältnisse etc. hin. Letzten Endes aber kommt er, wie oben schon angeführt, ebenfalls darauf, daß ein Gerinnungsvorgang im Blut die Ursache des Zustandekommens der Anaphylaxie bildet; er geht also auch davon aus, daß das Blut eine Veränderung seiner Viskosität erleidet, wodurch dann weiter die von mir geschilderten Vorgänge im Körper hervorgerufen werden müssen.

Die Annahme, daß der anaphylaktische Vorgang im Tierkörper sich tatsächlich infolge von Vorhandensein von zuviel Säure im Blut usw. entwickelt, kann durch verschiedene Tatsachen gestützt werden: Bekanntermaßen wurde die Erscheinung der Anaphylaxie zum erstenmal durch Arthus festgestellt; es wird deshalb die Serumanaphylaxie des Kaninchens als Arthussches Phänomen bezeichnet. — Bei der Erklärung des Zustandekommens dieser Erscheinung muß ich vorausschicken, daß die Kolloide zum großen Teil Säuren sind; es gilt dies hauptsächlich von den Globulinen, die im Wasser unlöslich, dagegen in Kochsalzlösung löslich sind; ferner weise ich darauf hin, daß das Blutserum von Pferd und Rind überwiegend Globuline enthält. Man kann sich deshalb wohl erklären, daß durch Einspritzen von Pferdeserum, welches mehr Globulin enthält, beim sensibilisierten Kaninchen, wenn es vorher mit hypertonischen Kochsalzlösungen behandelt worden ist, kein anaphylaktischer Shock sich hervorrufen läßt; denn in dem so vorbehandelten Kaninchenblut lösen sich die eingespritzten Globuline des Pferdeserums, so daß keine Fällung erfolgen kann.

Wenn nach den 6—8 subkutan oder intraperitoneal ins Blut des Impftieres gebrachten Pferdeserumdosen erst auf die nun folgende intravenöse Injektion von Pferdeserum die anaphylaktischen Erscheinungen deutlich auftreten, so glaube

ich, daß es in der Weise erklärlich ist: Bei den subkutanen oder intraperitonealen Injektionen kommen die Globuline des Pferdeserums nicht direkt ins Blut, sondern erleiden beim vorherigen Passieren von Lymphdrüsen sicherlich eine Veränderung in der Weise, daß die Lymphdrüsen diese Eiweißkörper teilweise abbauen bzw. einen Teil der Giftigkeit der eingeführten Eiweißkörper zurückhalten oder abschwächen. Bei der nun folgenden intravenösen Injektion (in eine Ohrvene) kommt es, da schon vorher eine größere Menge fremder Eiweißkörper im Blut des Impftieres vorhanden ist, zu einer plötzlichen Anhäufung solcher Kolloide (bei deren Säurecharakter die vorhandenen Alkalien nicht mehr zur Neutralisation ausreichen) und damit zu einer Ausfällung der Kolloide, wodurch die Viskosität des Blutes erhöht wird, wir bekommen dann neben dem Entstehen neuer Kolloide die oben angeführten Vorgänge im Kreislaufsystem usw.

Die weitere Tatsache, daß sich bei sensibilisierten Impftieren durch Einspritzen von zu starken Serummengen die Erscheinung der Anaphylaxie nicht hervorrufen läßt, wird uns ebenfalls klar, wenn wir uns folgendes vergegenwärtigen: bei dem sensibilisierten Tiere ist es durch die Einspritzung der Globuline zu einer Verarmung des Blutes an Alkalien gekommen, das Blut ist also vor der intravenösen Injektion neutral bzw. schwach sauer; kommt nun eine geringe Dosis neuen Serums ins Blut, dann bekommen wir den Shock; kommt aber eine zu starke Dosis neuen Serums ins Blut, dann bekommen wir den Shock nicht, und zwar deshalb nicht, weil durch die Einführung der zu großen Menge von Eiweißkörpern der Säuregrad der Blutflüssigkeit ein zu hoher wird, und, wie uns die physiologische Chemie lehrt, jeder Uberschuß an Säure Eiweiß in Lösung hält; wir bekommen also deshalb keine Ausfällung der Eiweißkörper und deshalb keinen Shock. — Auch Traube weist darauf hin, „daß nicht nur die Art des chemischen Zusatzes zu Kolloidlösungen, sondern auch dessen Menge den Gleichgewichtszustand in hohem Maße beeinflussen und daß Fällung nur bei einem ganz bestimmten, eng begrenzten mittleren Konzentrationsverhältnis eintritt“.

Die Tatsache, daß die sensibilisierten Impftiere in der Narkose mit Aether oder Chloräthyl eine sonst tödliche Serum-

dosis vertragen, kann einmal mit der Einwirkung dieser Mittel auf die vasomotorischen Zentren erklärt werden; ich neige aber, weil nicht alle Narkosemittel hinsichtlich des Nichtauftretens des Shocks so wirken, dahin, daß dies auf dem allgemeinen chemischen Charakter des Aethers und des Chloräthyls beruht; denn Aether = Aethyläther hat die chemische Formel $C_2H_5OC_2H_5$; alle „Aether“ sind aber chemisch „Alkohole“, in welchen der H durch ein Alkoholradikal ersetzt ist; alle Alkohole aber verhalten sich chemisch wie Basen. Chloräthyl ist chemisch als ein zusammengesetzter Aether aufzufassen; es entspricht den neutralen Salzen der Metalle. — Wenn wir den chemischen Charakter dieser Narkotika berücksichtigen, die also nicht den Säuren zuzuzählen, sondern im Gegenteil zu den Basen zu rechnen sind, dann glaube ich, daß wir damit auch den Einfluß bei der Nichtauslösung des Shocks uns erklären können.

Weiter weise ich darauf hin, daß in neuerer Zeit von vielen Forschern über „Anaphylaxie“ die Eklampsie auch als ein solcher Vorgang angesehen wird. Einer der bekanntesten Forscher auf diesem Gebiete der Eklampsie, Geheimrat Dr. Zweifel-Leipzig, kam, wie er schon eingehend im Jahre 1904 begründete, zu der Feststellung, daß im Blute der eklampischen Frauen zu viel Säure (in Form von Milchsäure) sei; er führt das auf den zu reichlichen Genuß von Fleisch von seiten der graviden Frauen zurück und empfiehlt direkt als Heilmittel dagegen Aderlaß und subkutane Transfusionen von wässerigen Lösungen von Natr. bicarbonic. und Natr. chlorat. je 0,5-proz. neben starker Einschränkung des Fleischgenusses und Ersatz dieses Nahrungsmittels durch reichlich Obst und Gemüse und Verabreichen von Fruchtsäften.

Der Aehnlichkeit halber führe ich weiter an, daß nach persönlicher Mitteilung von ärztlicher Seite am Anfang der Salvarsanbehandlung bei den Patienten Anfälle, wie sie den Krämpfen bei der Eklampsie (= Anaphylaxie) ähnlich sind, zur Auslösung kamen; erst nachdem man das Salvarsan vor der Einspritzung mit Kalilauge neutralisierte, blieben die Anfälle, das Auftreten von lokaler Nekrose und die Todesfälle aus.

Unter Hinweis auf die oben angeführte Erklärung der

Ursache der Gebärparese bemerke ich nochmals, daß ich jede Anaphylaxie mir so entstanden erkläre, wobei es letzten Endes gleich bleibt, ob die die Entstehung der Krankheit bewirkenden Eiweißkörper direkt ins Blut oder unter die Haut, oder ob sie durch den Verdauungstraktus oder beim feinfühligsten Menschen sogar per inhalationem in den Organismus eingeführt werden. Das Tatsächliche bleibt stets, daß in das Blut Eiweißkörper kommen, welche an den dort vorhandenen infolge chemisch-physikalischer Vorgänge Zustandsänderungen hervorrufen, wodurch sich dann nebenbei neue Kolloide von anderer Zusammensetzung bilden. Als sicher ist dabei anzunehmen, daß bei dem Zustandekommen der Ueberempfindlichkeit des Körpers in erster Linie die von mir geschilderten mechanischen Vorgänge im Blute zu berücksichtigen sind. — In praxi wird dies dadurch nachgewiesen, daß tatsächlich das Blut eklamptischer Frauen eine erhöhte Viskosität zeigt (durch Untersuchung von Engelmann nachgewiesen); des ferneren hat Engelmann nachgewiesen, daß solche Frauen in über 100 Fällen erhöhten Blutdruck (160—170) zeigten. — Daß ferner bei den anaphylaktischen Vorgängen die krankhaften Erscheinungen mit erhöhtem Blutdruck, eventuell Temperaturerhöhung beginnen, welchem bald Blutdrucksenkung und Temperatursturz folgt, trifft für beinahe alle solche Fälle zu; wenn es nicht bei allen anaphylaktischen Vorgängen in schematischer Form der Fall ist, so spielen hier natürlicherweise unter den Tieren einer Species individuelle Veranlagungen und Quantität und Qualität der eingeführten Eiweißstoffe eine große Rolle; bei den Tieren verschiedener Species ist das Bild ja — wie eingangs erwähnt — schon an sich verschieden; jedenfalls steht so viel fest, daß alle Forscher einig sind, daß die vasomotorischen Zentren in erster Linie bei der Auslösung des Shocks beteiligt sind.

Auch die Erscheinung der erschwerten Gerinnung des anaphylaktischen Blutes ist ein Beweis für die von mir angenommenen Vorgänge im Blut, da nach Abderhalden Blut, welches sehr viel CO_2 enthält, schlecht oder gar nicht gerinnt. — Des ferneren spricht auch für die Richtigkeit meiner Theorie die Tatsache, daß die erschwerte Atmung infolge Blutstauung in den Lungen (= Oedem) und die die

Todesursache bildende Erstickung im anaphylaktischen Shock (Serumanaphylaxie) von allen Forschern bestätigt wird. — Die sonst bei manchen Tieren oder auch beim Menschen auftretenden anaphylaktischen Erscheinungen, z. B. Muskelschwäche, lassen sich zurückführen auf die Kontraktion der Muskelgefäße — die Durchfälle auf Ueberfüllung der Darmgefäße mit CO_2 -Blut und dadurch vermehrte Sekretion der Darmwände — die manchmal beobachteten Anfälle von Hämoglobinurie (Hämaturie) auf eine Zustandsänderung des Hämoglobins und Zerlegung desselben in Globin und Hämatin; — das Zustandekommen von Krämpfen erfolgt deshalb, weil infolge mangelnden O-Gehalts des Blutes das Gehirn notleidet und die gesteigerte Venosität des Blutes (Erstickungsblut) als Reiz auf die motorischen Ganglien des verlängerten Marks wirkt und allgemeine Krämpfe auslöst.

Durch diese Vorgänge, die sich an den Kolloiden des Blutes abspielen, bilden sich natürlich infolge der chemisch-physikalischen Eigentümlichkeit der Kolloide neue Kolloidkörper von anderer Struktur, welche nun auch chemisch bzw. serologisch nach dem Ueberstehen des anaphylaktischen Anfalls im Blute nachweisbar sind; eben diese neuen Kolloide sind es auch, welche dann einem geimpften Tier die absolute Unmöglichkeit verleihen, innerhalb einer gewissen Zeit durch neu eingebrachte Eiweißkörper der gleichen Zusammensetzung eine klinisch merkbare Zustandsänderung der Kolloide seines Blutes zu erleiden. Wir können demnach die Anaphylaxie einfach als eine Etappenstation auf dem Wege der Immunität ansehen.

Im Anschluß an diese allgemeine Ausführung über Anaphylaxie möchte ich betreffs der Eklampsie noch speziell folgendes anführen: Bezüglich der Art der Eiweißstoffe, welche die Erscheinungen der Anaphylaxie intra oder post graviditatem (Eklampsie) hervorrufen, ist ja bekannt, daß die Forscher zum Teil (Zweifel siehe oben) die Einführung von reichlichem Eiweiß beschuldigen, zum Teil die Resorption von Placentarzotten und dadurch das Auftreten von Syncytiolysinen oder -toxinen als Ursache annehmen, und daß man ferner im Blute eklamptischer Frauen gesteigerten Gehalt an Kreatin und Kreatinin, ferner Karbaminsäure, Milchsäure, Leukomaine ge-

funden hat. Da Resorption von Placentarzotten auch bei ganz gesunden Frauen nachgewiesen wurde, erinnere ich bezüglich des Auftretens von Syncytiolysinen daran, daß die Placentarzotten bzw. Epithelien in erster Linie dem Ernährungsvorgang zwischen Mutter und Foetus zu dienen haben; es werden unter dem hohen Druck in den mütterlichen Gefäßen der Placenta aus dem mütterlichen Blute Wasser, Eiweißstoffe und Salze in die Interstitien der Placenta transsudiert, und dieses dem Blutplasma nahestehende Transsudat kann von den unter geringerem Druck stehenden Blutgefäßen der Frucht resorbiert werden, so daß auf diesem Wege der Foetus außer dem für die Lebensprozesse unentbehrlichen O auch noch die zu seiner Ernährung und seinem Wachstum erforderlichen Stoffe, in erster Linie Eiweißstoffe und Salz enthält. — Dabei ist wohl sicher, daß auf diese Weise gewissermaßen ein Austausch von Eiweißkörpern herüber und hinüber stattfindet, so daß auch Eiweißkörper (abgebaute und nicht abgebaute), die nicht durch die Nieren des Foetus ausgeschieden werden können, in das mütterliche Blut unbedingt mitübergehen müssen, denn als Ausscheidungsorgane des Foetus existieren ja eigentlich bloß die Nieren (neben sonst Darm, Haut und Lungen); aus diesem Grunde kommt es beim fötalen Kreislauf sicher zu einem Uebergang fötaler Eiweißstoffwechselprodukte in den mütterlichen Kreislauf. In dem mütterlichen Kreislauf werden diese gewissermaßen körperfremden Eiweißstoffe eine rasche Verbrennung um so schwerer erfahren können, weil der mütterliche Organismus unter normalen Verhältnissen ohnehin an O-Mangel leidet; denn der Foetus kann ja seinen verbrauchten O nicht selbst ergänzen, sondern bekommt ihn vom mütterlichen Blute zugeführt. — Ich glaube, daß auf diese Weise das festgestellte Auftreten von Syncytiolysinen im mütterlichen Blut hinsichtlich seiner schädigenden Wirkung sich erklären läßt. — Dabei ist auch zugleich erklärlich, daß man aus Placentarsaft durch Auspressen oder Herstellen einer Emulsion die giftigen Stoffe: Syncytiotoxine oder -lysine erhält.

Nach den eben gemachten Ausführungen mache ich mir das Bild der Entstehung der Eklampsie in der Weise zurecht, daß ich sage, daß die erwähnten drei Faktoren: 1) überreiche Eiweißnahrung (Fleisch), 2) Eiweißstoffwechselprodukte des

Foetus, 3) mangelhafte Verbrennungsmöglichkeit der Eiweißkörper im Organismus der Mutter infolge O-Mangels als Ursachen anzusprechen sind, welche dann die Entstehung der Umsetzung bzw. Zustandsänderung an den Kolloiden des mütterlichen Blutes hervorrufen und letzten Endes zu einer CO_2 -Vergiftung führen. — Bezüglich der sonst beobachteten klinischen Erscheinungen bei Eklamtischen weise ich noch auf das Vorkommen von Eiweiß im Harn solcher Frauen hin; nach den seitherigen Beobachtungen kann es sich dabei in den meisten Fällen nicht um Nierenerkrankungen handeln, denn kurze Zeit nach dem Ueberstehen der Eklampsie hört auch die Ausscheidung von Eiweiß auf; Abderhalden gibt uns durch seine serologischen Versuche darüber Aufschluß; er schreibt in seinem Buch „Abwehrfermente“, 1913, p. 122: „In das Blut sind, wie bei jeder Schwangerschaft, plasmafremde Stoffe, und zwar in jedem Falle Proteine gelangt. Normalerweise werden diese Verbindungen durch Abbau mittelst der Abwehrfermente entfernt. Bei einer Frau mit Nephritis gravidarum war der Abbau offenbar sehr mangelhaft. Infolgedessen häuften sich die plasmafremden Proteine an; sie werden schließlich durch die Nieren entfernt.“

Neben den an den Eiweißkörpern des Blutes vor sich gehenden Veränderungen, die als klinische Formen der Anaphylaxie oben angeführt sind, gibt es sicher noch Vorgänge an den Eiweißkörpern, bei denen die Ueberempfindlichkeit nicht so spezifisch bzw. nicht so stürmisch in Erscheinung tritt, so daß es nicht zur Ausbildung der Vorgänge im Blute in ihrem ganzen oben geschilderten Verlauf kommt und z. B. bloß erhöhter Blutdruck bei manchen Individuen ohne nachweisbar vorhandene organische Fehler auftritt. — Ich nehme dabei an, daß in solchem Fall die dem einzelnen Individuum spezifische Mischung der Kolloide seines Blutes, ferner die Art und Weise der eingeführten Eiweißkörper, die natürliche Abwehrtätigkeit des Körpers und die Funktion der Ausscheidungsorgane eine große Rolle spielen. — Wahrscheinlich ist es, daß sich durch solche Vorgänge auch das Auftreten von Kollapserscheinungen nach dem Ueberstehen von schweren fieberhaften Krankheiten im Rekonvaleszenzstadium erklären läßt.

Anführen will ich zum Schluß, daß die Behandlung aller klinischen Formen der Anaphylaxie sich in kausaler Richtung auf die Behandlung des Blutes erstrecken muß; das Blut muß verdünnt werden, die darin in zu großer Menge vorhandenen Eiweißkörper müssen ausgeschieden bzw. in Lösung übergeführt werden. Als Mittel dazu empfehle ich deshalb: reichlichen Aderlaß (die zu reichlich vorhandenen Eiweißkörper werden zum Teil ausgeschieden, in zweiter Linie wird durch den Aderlaß herbeigeführt, daß aus den wasserhaltigen Teilen des Körpers Flüssigkeit dem Blut zuströmt und dieses dadurch in seiner Viskosität herabgesetzt wird); nachfolgend: intravenöse oder subkutane Infusion von neutralen alkalischen Salzlösungen (NaCl-Lösung oder Ringerscher Flüssigkeit), Einführung von O in den Körper: a) per inhalationem, wenn kein Lungenödem da ist, b) subkutan (durch O-Einströmenlassen), c) durch intravenöse Gaben von H₂O₂-Lösung (3-proz. Lösung von säurefreiem Perhydrol Merck), d) Versuch von O-Einführung direkt ins Blut (mit Kochsalzlösung vermischt) oder O-Zuführung mittels eines Ueberdruckapparates; daneben empfiehlt sich: Entleerung des Darms, Trinkenlassen von pflanzensauren Flüssigkeiten und möglichste Enthaltung von eiweißreicher Nahrung (hauptsächlich Fleisch). Betreffs der intravenösen Zuführung von Perhydrol führe ich an, daß solches in 3-proz. Lösung und Mengen von 150 g pro Tag ohne Anstand und mit gutem Erfolg Pferden verabreicht wurde.

Zusammenfassung.

Bei der parenteralen Eiweißverdauung (Anaphylaxie, Peptonvergiftung) kommt es infolge chemisch-physikalischer Vorgänge zu Zustandsänderungen an den Kolloiden des Blutes; dadurch wird die Viskosität des Blutes erhöht und auf die vasomotorischen Zentren ein Reiz ausgeübt, welcher nun seinerseits eine Kohlensäurestauung im Blute hervorruft; bei Fortdauer dieser kommt es zum Schluß zur Kohlensäurevergiftung (anaphylaktischer Shock). (G. C.)

Nachdruck verboten.

Serologische Untersuchungen an Fleckfieberkranken aus der asiatischen Türkei.

Von Dr. A. Felix.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. März 1917.)

Ich hatte Gelegenheit, vom Oktober 1916 bis Januar 1917 im Deutschen Rote-Kreuz-Lazarett in Konstantinopel (Chefarzt Dr. Theodor Zlocisti, Berlin) eine größere Anzahl von Fleckfieberfällen serologisch und bakteriologisch zu untersuchen. Diese Fälle sind epidemiologisch ausnahmslos als kleinasiatisches oder syrisches Fleckfieber zu bezeichnen, denn die Patienten waren teils bereits auf der Reise aus jenen Gegenden oder einige Zeit nach ihrer Ankunft in Konstantinopel erkrankt, teils standen sie sonst zu dortigen Infektionsquellen in Beziehung. Es befanden sich unter den Erkrankten türkische Soldaten verschiedenster Herkunft, kriegsgefangene Russen, Inder, Afrikaner von den asiatischen Kriegsschauplätzen. Ein Zusammenhang dieser Epidemie mit der im Winter 1915/16 am galizisch-russischen Kriegsschauplatze beobachteten besteht sicher nicht.

Der Zweck der Untersuchung war zunächst, die von Weil und Felix (1) am galizisch-russischen Kriegsschauplatze ausgearbeitete Serodiagnostik des Fleckfiebers mit Hilfe der spezifischen Proteusstämmen (X-Stämme) auf ihre Verwendbarkeit beim „asiatischen“ Fleckfieber zu prüfen. Diese Untersuchung hatte in erster Reihe ihre Bedeutung für die diagnostische Praxis — und damit auch für die Seuchenbekämpfung — andererseits bot sie auch vom theoretischen Standpunkte Interesse. War doch noch im Sommer 1916 von Friedberger (2) die ätiologische Einheit des Fleckfiebers in Zweifel gezogen worden, und auf der anderen Seite machten manche Autoren [als erster Reichenstein (3)] für das Zustandekommen der spezifischen Fleckfieberagglutination eine lokale Mischinfektion mit *Proteus* verantwortlich, die eine durch den Genius loci bedingte Abnormität der Fleckfieber-

epidemie am galizisch-russischen Kriegsschauplatze im Winter 1915/16 darstellen sollte. In diesen beiden Fragen mußte der positive Ausfall der spezifischen Fleckfieberreaktion bei „asiatischem“ Fleckfieber auf einfachste Weise Klärung schaffen.

Schon die ersten orientierenden Versuche zeigten, daß die asiatischen Fleckfiebersera den spezifischen Proteus X_{19} in gleicher Weise beeinflußten wie die europäischen. Und die folgenden systematischen Untersuchungen an einem großen Material ergaben eine weitgehende Uebereinstimmung mit den von Weil und Felix mitgeteilten Ergebnissen.

Es kann zunächst auf Grund von 310 untersuchten Fleckfieberfällen, die unter guter klinischer Beobachtung standen, bestätigt werden, daß auch hier die Agglutinationsreaktion in 100 Proz. der Fälle auftrat. In keinem einzigen der Fälle blieb sie während des ganzen Verlaufes aus, wenn man — entgegen der unbegründeten Forderung mancher Autoren [z. B. Dietrich (4)] — die bei 1:50 stark positive Reaktion bereits als für Fleckfieber beweisend gelten läßt. Andererseits zeigte die Prüfung von 140 Kontrollseren, die von den verschiedenartigsten Erkrankungen stammten, auch hier keine höhere Normalreaktion als die von Weil und Felix in 12 Proz. beobachtete Normalagglutination bei 1:25, selten bei 1:50. Es konnte daher in klinisch zweifelhaften Fällen, insbesondere wenn differentialdiagnostisch Typhus oder die Paratyphen in Betracht kamen, auch hier die Serodiagnose in der von uns beschriebenen Weise mit Erfolg angewendet werden.

Die an einem Teile der Kranken durchgeführte mehrmalige Untersuchung der Serumreaktion bestätigte in allen wesentlichen Punkten unsere früheren Befunde über die Kurve der Fleckfieber-Agglutination mit X_{19} . Tabelle I enthält einen Teil dieser während beinahe des ganzen Krankheitsverlaufes untersuchten Fälle und zeigt das Auftreten, die Zunahme und Abnahme der Agglutinine gegen X_{19} , X_2 , Typhus und Paratyphus A. (Paratyphus B konnte vernachlässigt werden, da diese Erkrankung hier nur selten vorkommt.)

Tabelle 1.

Lf. No.	Fall	Krank- heitstag	Agglutin. X ₁₀	Agglutin. X ₁	Agglutin. Typhus	Agglutin. Paratyph. A	Klinischer Verlauf
1	459	7	50	.	—	—	leicht oder mittel- schwer
		10	500	.	—	—	
		18	1 000	200	—	—	
		29	500	100	—	—	
		38	500	50	—	—	
2	463	9	1 000	.	75	—	
		14	2 000	25	2 000	—	
		15	5 000	25	2 000	—	
		20	1 000	25	5 000	—	
		30	1 000	25	2 000	—	
		38	1 000	—	200	—	
3	461	8	200	.	75	—	
		22	1 000	50	1 000	—	
		28	500	50	1 000	—	
		39	200	50	500	—	
4	481	7	100	—	75	—	
		12	1 000	200	75	—	
		23	1 000	100	200	—	
		33	500	50	2 000	—	
5	482	7	50	.	—	—	
		13	2 000	100	75	—	
		18	5 000	50	75	—	
		25	1 000	50	75	—	
		33	1 000	50	75	—	
6	494	7	1 000	25	75	—	
		14	2 000	50	1 000	75	
		24	1 000	50	500	—	
7	489	8	1 000	.	—	—	
		14	5 000	50	200	—	
		20	500	50	200	—	
		25	500	50	75	—	
8	522	9	2 000	25	—	—	
		13	20 000	200	200	—	
		17	20 000	100	2 000	—	
		21	20 000	100	2 000	—	
		25	5 000	50	150 000	—	
9	520	8	200	50	500	—	
		14	5 000	100	75 000	—	
		20	10 000	100	75 000	—	
		24	5 000	50	2 000	—	
		51	100	—	500	—	
10	511	7	1 000	25	—	75	
		12	10 000	25	—	75	
		17	20 000	50	75	500	
		25	5 000	—	—	200	

Lf. No.	Fall	Krank- heitstag	Agglutin. X ₁₉	Agglutin. X ₉	Agglutin. Typhus	Agglutin. Paratyph. A	Klinischer Verlauf
21	630	4	50	—	—	—	leicht oder mittel- schwer
		5	50	—	—	—	
		9	500	50	75	—	
		16	200	50	75	—	
		23	200	100	—	—	
		34	100	50	—	—	
22	653	4	200	—	75	—	
		7	2 000	—	500	75	
		11	5 000	—	2000	200	
23	590	3	—	—	—	—	
		5	50	—	—	—	
		12	1 000	50	—	—	
		23	1 000	50	—	—	
		37	500	—	—	—	
24	660	2	100	—	500	—	
		5	500	—	500	—	
		9	1 000	—	500	—	
		12	2 000	—	500	—	
		17	2 000	—	500	—	
25	682	5	200	—	—	—	
		7	1 000	50	75	—	
		10	2 000	100	500	—	
		12	2 000	100	200	—	
		17	2 000	50	2000	—	
26	685	5	500	50	75	—	
		7	5 000	50	200	—	
		10	10 000	50	200	—	
		15	5 000	50	200	—	
		19	2 000	50	200	—	
		26	2 000	25	75	—	
27	698	4	200	—	75	—	
		6	500	50	500	—	
		8	1 000	100	75	—	
		11	10 000	200	75	—	
		16	5 000	200	200	—	
28	677	7	100	—	—	—	
		9	1 000	—	—	—	
		11	2 000	100	—	—	
		14	2 000	200	—	—	
		23	1 000	100	—	—	
29	688	6	50	—	—	—	
		12	200	—	—	—	
		14	500	25	75	—	
		16	2 000	50	75	—	
		23	1 000	—	75	—	

Lf. No.	Fall	Krank- heitstag	Agglutin. X ₁₀	Agglutin. X ₅	Agglutin. Typhus	Agglutin. Paratyph. A	Klinischer Verlauf
11	538	1	—	—	75	—	leicht oder mittel- schwer
		2	50	—	—	—	
		4	200	50	—	—	
		10	10 000	500	500	—	
		14	10 000	500	200	75	
		21	10 000	500	200	—	
12	543	9	500	25	—	—	
		17	20 000	100	—	—	
		24	2 000	200	—	—	
		33	2 000	100	—	—	
13	544	2	—	—	—	—	
		3	25	—	—	—	
		7	1 000	100	—	—	
		18	2 000	1000	—	—	
		25	1 000	200	—	—	
14	533	9	50	25	75	—	
		13	2 000	100	75	—	
		23	2 000	100	75	—	
		28	2 000	100	75	—	
		48	500	25	75	—	
15	556	10	100	—	—	—	
		16	5 000	—	—	—	
		30	1 000	—	—	—	
		39	200	—	—	—	
16	572	4	50	—	75	—	leicht oder mittel- schwer
		7	2 000	25	75	—	
		11	5 000	200	500	—	
		25	2 000	100	200	—	
17	549	7	200	—	—	—	
		11	1 000	50	—	—	
		20	2 000	25	—	—	
		28	1 000	25	—	—	
		41	200	25	—	—	
18	611	5	200	—	—	—	
		14	5 000	50	75	—	
		33	2 000	50	75	75	
		36	1 000	50	75	75	
		43	1 000	—	75	—	
19	584	4	50	25	—	—	leicht oder mittel- schwer
		10	2 000	100	500	—	
		31	1 000	50	75	—	
		37	500	50	75	—	
20	589	5	50	—	—	—	leicht oder mittel- schwer
		15	1 000	100	1000	—	
		23	1 000	50	2000	—	
		36	200	25	2000	—	

Lf. No.	Fall	Krank- heitstag	Agglutin. X ₁₉	Agglutin. X ₁	Agglutin. Typhus	Agglutin. Paratyph. A	Klinischer Verlauf
30	703	9	1 000	—	—	—	
		12	10 000	100	—	—	
		14	10 000	200	—	—	
		16	75 000	200	—	—	
		18	50 000	200	—	—	
		22	20 000	200	—	—	
31	689	8	2 000	—	75	—	leicht oder mittel- schwer
		11	10 000	50	500	—	
		13	20 000	50	500	—	
		25	20 000	50	75	—	
		20	10 000	—	200	—	
32	649	9	500	—	—	—	
		12	2 000	—	200	—	
		14	10 000	—	200	—	
		18	10 000	50	200	—	
		28	5 000	50	75	—	
		40	2 000	—	—	—	
33	442	7	50	—	—	—	schwer
		8	100	—	—	—	
		9	100	—	—	—	
		12	200	—	—	—	
		20	200	—	—	—	
		31	100	—	—	—	
		40	25	—	—	—	
34	470	11	25	—	75	—	sehr schwer
		13	100	—	75	—	
		21	50	—	75	—	
		30	25	—	75	—	
		39	—	—	75	—	
35	541	7	25	25	75	—	sehr leicht
		15	50	50	1000	2000	
		21	25	50	2000	2000	
		30	25	25	1000	1000	
36	602	4	—	—	—	—	schwer; Exitus
		9	25	25	—	—	
		11	25	50	—	—	
37	562	7	25	—	—	—	schwer
		12	100	50	—	—	
		18	100	50	75	75	
		26	50	—	75	—	
		44	50	—	75	—	
38	575	6	50	—	1000	200	leicht
		9	50	—	500	—	
		19	100	—	1000	75	
		29	100	—	2000	75	
		33	50	—	1000	—	

Lf. No.	Fall	Krank- heitstag	Agglutin. X ₁₉	Agglutin. X ₂	Agglutin. Typhus	Agglutin. Paratyph. A	Klinische Diagnose
39	605	8	50	25	—	—	} schwer
		15	200	25	75	75	
		25	200	25	75	—	
40	571	9	—	—	—	—	} schwer
		12	50	—	—	—	
		22	200	—	—	—	
		32	50	—	—	—	
		43	25	—	—	—	
41	588	6	—	—	—	—	} schwer
		7	25	—	—	—	
		9	100	—	—	—	
		16	1000	—	—	—	
		27	1000	—	—	—	
		41	50	—	—	—	
42	678	6	50	—	75	—	} schwer
		8	100	—	—	—	
		10	200	—	75	—	
		13	200	—	200	—	
		19	200	—	75	—	
		22	200	—	75	—	
43	680	6	—	—	400 000	75	} leicht
		9	100	—	500 000	200	
		13	500	—	500 000	200	
		16	500	—	400 000	200	
		22	200	—	100 000	200	
		28	200	—	50 000	—	
44	695	8	—	—	75	75	} schwer
		11	25	25	75	—	
		14	100	100	200	75	
		18	100	50	200	75	
		22	50	25	200	—	
45	691	9	200	—	75	—	} somatisch, leicht, doch mit Psychose
		11	200	100	75	—	
		14	500	100	2 000	—	
		17	500	100	1 000	—	
		20	500	100	1 000	—	
		25	200	50	1 000	—	
46	642	7	100	25	75	—	} schwer
		12	200	100	2 000	—	
		16	500	100	10 000	75	
		26	200	25	10 000	75	
		32	200	—	2 000	—	

In dieser Tabelle sind zunächst die früher (5) beschriebenen Typen der Kurve der Fleckfieberagglutination mit aller Deutlichkeit wiederzuerkennen. Zum Typus I (Fall 1—32)

mit frühzeitigem Auftreten der Agglutinine, hohen Titerwerten gegen X_{19} und sehr großen Differenzen zwischen den Titerwerten gegen X_{19} und X_2 gehören in der Regel fast alle unter dem normalen Bilde des Fleckfiebers leicht oder mittelschwer verlaufenden Fälle. Den Typus II (Fall 33—46) mit spätem Auftreten der Agglutinine, niedrigen Titerwerten gegen X_{19} und kleinen Differenzen zwischen den Titerwerten gegen X_{19} und X_2 bilden dagegen in der Regel die schwersten, oft letal ausgehenden Fälle, aber auch die seltenen, abnorm leicht verlaufenden Formen fallen in diese Gruppe, wie gemeinsam mit Zlocisti an einer größeren Zahl von Krankheitsfällen einwandfrei festgestellt werden konnte. Auf diese vom theoretischen Standpunkte überaus interessanten Verhältnisse kann an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden. Sie stehen in Zusammenhang mit der Frage nach der Stellung der beiden Gruppen der spezifischen X-Stämme zueinander, die einerseits durch X_2 , andererseits durch X_{19} repräsentiert werden. Ueber die nahen Beziehungen zwischen Typus der Agglutinationskurve und klinischem Verlauf des Fleckfiebers wird dagegen gleichzeitig von Zlocisti in einer ausführlichen Arbeit berichtet.

Wie aus Tabelle I zu ersehen ist, waren diese Fälle, von welchen nur wenige in den ersten Tagen der Erkrankung zur Untersuchung gelangten, nicht geeignet für eine genaue Nachprüfung unserer Angaben über das erste Auftreten der Agglutinationsreaktion. Doch kann auf Grund dieser Fälle sowohl als auch jener, die in der Tabelle I nicht aufgenommen sind, bestätigt werden, daß — von Ausnahmen abgesehen — bei Fleckfieberfällen vom Typus I die Agglutinine für X_{19} in der Regel gegen den 4. Tag und bei jenen vom Typus II gegen den 7. Tag nachweisbar werden. Allerdings muß im Interesse der gerade wichtigsten Frühdiagnose mit allem Nachdruck nochmals darauf hingewiesen werden, daß nach allen uns bekannt gewordenen Erfahrungen über die Normalagglutination verschiedener heterologer Sera mit X_{19} gar kein Grund dafür vorliegt, entgegen der von Weil und Felix angegebenen Arbeitsweise auf die Verwertung der bei 1:25 und 1:50 positiven Reaktion zu verzichten und erst die positive Reaktion in der Verdünnung 1:100 [siehe

Dietrich (4)] als für Fleckfieber beweisend anzusehen. Kommt es doch unter den Fleckfieberfällen vom Typus II der Agglutinationskurve gar nicht selten vor, daß die Titerhöhe von 1:100 gar nicht oder nur kaum erreicht wird, andererseits aber bieten die hierher gehörigen abortiven Fälle, die als Infektionsquellen gerade die größte Gefahr darstellen, der klinischen Diagnose oft unüberwindliche Schwierigkeiten. Und bei der von uns angegebenen Bewertung der bei 1:25 und 1:50 positiven Agglutinationsreaktion gelingt es doch in 100 Proz. auch dieser Fälle eine zweifellos eindeutige Sero-diagnose zu stellen.

Auch bezüglich der Persistenz der Reaktion ergab sich die Uebereinstimmung mit den Feststellungen am europäischen Fleckfieber. Tabelle II zeigt die Resultate der nach dieser Richtung hin durchgeführten Prüfung der Serumreaktion von 5 Personen, die Fleckfieber überstanden hatten:

Tabelle II.

No.	Name	Fleckfieber durchgemacht vor	Agglutin. X_{19}	Agglutin. X_9
1	M. O.	18 Monaten	25 —	25 —
2	H.	6 „	25 —	25 —
3	J. G.	6 „	25 + + ± 50 +	—
	„	8 $\frac{1}{2}$ „	25 ± 50 ±	25 ± 50 —
4	K. J.	2 „	25 ± 50 —	25 ± 50 —
5	H. A.	2 $\frac{1}{2}$ „	25 + 50 ±	25 ± 50 —

Daß die Dauer des Bestehenbleibens der Reaktion von der Höhe des zur Zeit der Entfieberung erreichten Titerwertes abhängt — wie bereits früher mit Wahrscheinlichkeit angenommen werden konnte — ergibt sich aus der Tabelle II ganz deutlich, wenn man jene Fälle vom Typus I und Typus II miteinander vergleicht, die noch längere Zeit nach der Entfieberung untersucht werden konnten. Da im Winter 1915/16 auch auf dem asiatischen Kriegsschauplatze Fleckfieber geherrscht hatte, war aus diesem Grunde zu erwarten, daß bei Erkrankungen von Leuten, die im Vorjahre Fleckfieber durchgemacht hatten, eine noch nachweisbare Agglutinationsreaktion zu einer Fehlerquelle bei der Diagnosenstellung werden könnte. Es mußte auch der Umstand berücksichtigt werden, daß in

solchen Fällen unter dem unspezifischen Reiz irgendeiner fieberhaften Erkrankung die spezifischen Proteusagglutinine in analoger Weise wieder auftreten, wie dies von Weil und Felix (6) an Personen, die Typhus durchgemacht hatten oder gegen Typhus geimpft waren, für die Typhusagglutinine festgestellt worden ist. Diese Komplikation der Serodiagnose blieb jedoch in unseren Fällen aus. Es gelangten nur 2 Recurrenzfälle zur Untersuchung, die einige Monate früher sicher Fleckfieber durchgemacht hatten. In beiden Fällen blieb jedoch die zu Beginn der neuen Erkrankung noch bei 1:25 positive Fleckfieberreaktion während des ganzen Verlaufes unverändert.

Auch mit den von Weil und Felix (6) mitgeteilten Befunden über die Gruber-Widalsche Reaktion beim Fleckfieber zeigen die hiesigen Fälle, welche durchwegs gegen Typhus geimpfte Kriegsgefangene und Soldaten betreffen, völlige Uebereinstimmung. In der Tabelle I sind die Titerwerte der Gruber-Widalschen Reaktion auch ihrer absoluten Höhe nach mit den von Weil und Felix (6) mitgeteilten direkt vergleichbar, da sie mit Fickerschem Diagnostikum gleicher Provenienz festgestellt wurden. Das gleiche unspezifische Auftreten der Gruber-Widalschen Reaktion (mit Zunahme und Abnahme des Titers), wie es Tabelle IV der zitierten Mitteilung in der Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 31, zeigte, konnte auch an 2 Recurrenzfällen beobachtet werden.

Konnte derart bezüglich der spezifischen Fleckfieberagglutination mit X_{19} eine fast absolute Gleichheit des Verhaltens von asiatischen und europäischen Fleckfieberseren festgestellt werden, so zeigten die Sera der hiesigen Epidemie andererseits doch zwei auffallende Abweichungen, und zwar:

- 1) in ihrem Verhalten gegenüber X_2 und
- 2) in dem häufigen Auftreten von Hemmungsstoffen.

Ad 1. Bis zur Züchtung der Stämme vom Typus X_{19} (April 1916) konnte in mehreren Laboratorien am russischen Kriegsschauplatze auch mit Hilfe des Stammes X_2 die Serodiagnose des Fleckfiebers in Uebereinstimmung mit der kli-

nischen Diagnose und zu ihrer Stütze gestellt werden. Und unter den 225 Fleckfieberfällen, die Weil und Felix bis Juni 1916 untersucht hatten, befanden sich nur 2 Sera (also nicht einmal 1 Proz.), welche während des ganzen Krankheitsverlaufes die Agglutinationsreaktion mit X_2 nicht zeigten. Bei den Fällen der hier untersuchten Epidemie wurde diese Erscheinung dagegen häufiger festgestellt. Wie sich aus Tabelle I ergibt, waren in 10 von 46 Fällen (= 22 Proz.) während des ganzen Verlaufes des Fleckfiebers Agglutinine gegen X_2 nicht nachweisbar. Und auch unter den übrigen 250 Fällen der hiesigen Epidemie wurde ungefähr der gleiche Prozentsatz negativer Reaktionen mit X_2 gefunden. In den ersten Wochen der Epidemie (Oktober-November), als die Fälle meist ähnlich leicht verliefen, wie die am europäischen Kriegsschauplatze beobachteten, waren die negativen Reaktionen mit X_2 noch selten. In dem Maße aber, als die Krankheitsfälle schwerere Formen aufwiesen — was auch in einer höheren Mortalität zum Ausdruck kam — stieg der Prozentsatz der Sera, die den Stamm X_2 nicht beeinflussten. Wie die Tabelle I zeigt, waren es jedoch nicht ausschließlich die schwersten Fälle, also vom Typus II der Agglutinationskurve, welche diese Serumeigentümlichkeit konstatieren ließen. Allerdings war in dieser Gruppe der Prozentsatz von Seren, die in dieser Weise reagierten, ein höherer (7 von 14, d. i. 50 Proz.), als in den Fällen vom Typus I der Agglutinationskurve (3 von 32, d. i. 10 Proz.). Diese Erscheinung bildet einen wesentlichen Beitrag zur Klärung der Frage nach der Stellung der Stämme vom Typus X_2 und X_{19} zu einander. Ihre nähere Untersuchung muß jedoch einer späteren Arbeit vorbehalten werden.

Ad 2. In ähnlicher Weise trat auch die zweite Abweichung, welche die Serumreaktion der hiesigen Fälle von jener der europäischen deutlich unterschied, parallel mit der Zunahme der Schwere der Epidemie in Erscheinung. Zu Beginn der Epidemie (Oktober-November) waren die die Agglutination der X -Stämme hemmenden Serumstoffe in etwa 18 Proz. der Fälle nachweisbar, auf der Höhe der Epidemie dagegen in etwa 38 Proz. Tabelle III zeigt an einigen Fällen das

Auftreten dieser Agglutinationsbehinderung, die an dem europäischen Untersuchungsmaterial nur in den seltensten Ausnahmefällen beobachtet worden war.

Tabelle III.

Prot.-No.	Krank- heitstag	Hemmung der Agglutination mit X ₁₉				Endtiter
		1:25	1:50	1:100	1:200	
681	7.	—	+++	+++	+++	500 ±
	8.	+++	+++	+++	+++	2 000 ++
	10.	+++	+++	+++	+++	5 000 ±
	15.	+++	+++	+++	+++	2 000 +
653	4.	+	+++	+++	++	500 ±
	8.	+++	+++	+++	+++	2 000 +
	12.	+++	+++	+++	+++	5 000 +
677	7.	±	++	+	—	
	11.	+++	+++	+++	+++	2 000 ±
	14.	+++	+++	+++	+++	2 000 ++
698	4.	—	++	+++	++	
	6.	+	+++	+++	+++	500 +
	8.	++	+++	+++	+++	1 000 +
	11.	+++	+++	+++	+++	10 000 +
703	9.	±	+++	+++	+++	1 000 ±
	12.	+++	+++	+++	+++	10 000 +
	14.	+++	+++	+++	+++	10 000 +
	16.	+++	+++	+++	+++	75 000 +
630	4.	+	±	—	—	
	5.	++	+	—	—	
	9.	++	+++	+++	+++	500 ±
	16.	±	++	+++	+++	500 ±
	23.	±	++	+++	+++	500 ±
	34.	+++	+++	++	±	

Die Resultate wurden nach 2-stündigem Aufenthalt der Proben im Brutschrank und 18 Stunden Stehenlassen bei Zimmertemperatur notiert.

Die Hemmung der Agglutinationsreaktion war oft schon nach 1/2-stündigem Aufenthalt der Proben im Brutschrank deutlich erkennbar und blieb es ebenso auch nach Stehenlassen der Agglutinationsröhrchen durch 24 Stunden bei Zimmertemperatur. Die Hemmung trat viel häufiger und stärker gegenüber dem Stamm X₁₉ auf, doch wurde sie auch gegenüber X₂ oft beobachtet. Die Agglutination mit X₁₉ erlitt in den Verdünnungen 1:25 und 1:50 häufig eine so

40*

starke Behinderung, daß zur Vermeidung von Fehlern in der Diagnosenstellung von jedem neuen Serum immer die Verdünnungen 1:25 bis 1:200 angesetzt werden mußten. Gewöhnlich war die Hemmung zu Beginn und auf der Höhe der Erkrankung am stärksten und nahm in der Rekonvaleszenz ab. Doch war eine absolute Regelmäßigkeit in dieser Beziehung nicht feststellbar. In den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Seren war gewöhnlich schon nach 2—3 Tagen die Hemmung entweder gar nicht oder nur viel schwächer nachweisbar als im frisch entnommenen (24 Stunden alten) Serum. Ebenso zerstörte $\frac{1}{2}$ -ständiges Erwärmen des Serums auf 56° C die Hemmungsstoffe gänzlich. Ob 16 Stunden oder viele Tage alte Agarkulturen verwendet wurden, war für den Ausfall der Reaktion belanglos. Ebenso wenig zeigte sich ein Unterschied zwischen Kulturen, die 3mal überimpft und solchen, die 70mal abgeimpft waren. Dagegen trat mit Bouillonkulturen der X-Stämme die Agglutinationsbehinderung nicht auf.

Erwähnenswert war das Verhalten des Serums No. 680 aus Tabelle I. Das Serum zeigte folgende Reaktionen mit X₁₉ und Typhus:

Tabelle IV.

Krankheitstag	Agglutin. X ₁₉	Agglutin. Typhus
6.	25 —	50 + + +
	50 —	100 + + +
	100 —	400 000 +
9.	25 + ±	50 + + +
	50 + + +	100 + + +
	100 + ±	500 000 ±
13.	25 + + +	50 + + +
	50 + + +	100 + + +
	100 + + ±	200 + + +
	200 + ±	500 000 +
16.	25 + + +	50 + + +
	50 + + +	100 + + +
	100 + + +	200 + + +
	200 + +	400 000 +
	500 +	500 000 —

Während also am 9. Krankheitstage deutliche Hemmung gegenüber X₁₉ auftrat, konnte bezüglich der Typhusagglutination (weder mit lebenden Typhusbacillen noch mit Ficker-

schem Diagnostikum) trotz des abnorm hohen Titors selbst in der Verdünnung 1 : 50 eine Agglutinationsbehinderung nicht festgestellt werden.

In fast absolut gleicher Weise wie gegenüber X_{19} war die Agglutinationshemmung auch gegenüber X_{22} , einem hier gezüchteten spezifischen Proteusstamm vom Typus X_{19} , zu konstatieren. (X_{22} wurde bei der 1 Stunde post exitum vorgenommenen Sektion eines Ende der ersten Krankheitswoche verstorbenen Fleckfieberfalles aus Leichenblut, Gehirn, Leber und Niere gezüchtet und ist in kultureller sowie in serologischer Beziehung mit X_{19} identisch.)

Ohne auf die Untersuchung der Frage näher einzugehen, was die epidemiologische Ursache dieser zweiten Verschiedenheit der Serumreaktion der hier beobachteten Fleckfieberfälle gegenüber jenen in Galizien und Rußland im Jahre 1915/16 sein mag, kann doch diese Erscheinung zur Entscheidung einer von mehreren Autoren aufgeworfenen Frage mitheran gezogen werden. Wir meinen die Frage nach dem Zustandekommen der Agglutinationsreaktion mit den spezifischen X-Stämmen.

Reichenstein (3) suchte zunächst die Ursache für das Zustandekommen der spezifischen Fleckfieberagglutination beim galizisch-russischen Fleckfieber in einer lokalen Mischinfektion der Fleckfieberepidemie von 1915/16 mit Proteus. Die Feststellung der gleichen Serumreaktion beim Fleckfieber in einem serbischen Gefangenenlager (Cancik, 7) und die hier mitgeteilten Befunde an „asiatischem“ Fleckfieber stellen diese Ansicht wohl endgültig richtig.

Weltmann (8), Reichenstein (3), Dietrich (4), Csernell (9) und andere Autoren betonen in der Diskussion über das Zustandekommen der spezifischen Fleckfieberagglutination mit X_{19} insbesondere „die auffallende Erscheinung, daß die verschiedenartigsten, bei Fleckfieberkranken gefundenen Bakterien durch die Sera dieser Kranken agglutiniert werden“ (Dietrich, 4). Von manchen dieser Autoren werden auch noch andere, bei Fleckfieber nicht gefundene Bakterien, z. B. Typhusbacillen, in diese Reihe miteinbezogen. Nicolle (10)

fand bei 66 Proz. aller Fleckfieberkranken Agglutination mit dem *Micrococcus melitensis* (zitiert nach Reichenstein, 3). Die Erklärung für diese (nach Weltmann) „polyagglutinatorische“ Eigentümlichkeit des Fleckfieberserums, die Agglutination von X_{19} mitinbegriffen, wird einerseits in den physikalischen Veränderungen, welchen das Blutserum während des Fleckfiebers unterliegt, andererseits in dem Phänomen der Paragglutination im Sinne von Kuhn und Woithe (11) gesucht. Das Tatsachenmaterial, auf Grund dessen die spezifische Fleckfieberagglutination mit X_{19} , bei Anerkennung ihrer praktischen Bedeutung, in theoretischer Hinsicht mit der ganzen Reihe „polyagglutinatorischer“ Reaktionen als gleichwertig behandelt wird, bedarf jedoch einer Klärung, da es sich ohne Nachprüfung und Kritik in der neueren Literatur immer wieder angeführt findet.

Bezüglich der Typhusagglutinine im Fleckfieberserum ist die Haltlosigkeit der von Reichenstein, Weltmann und anderen Autoren geäußerten Ansichten durch Fleckseder, Weil und Felix (6) bereits restlos nachgewiesen. Diese Feststellungen finden in den Beobachtungen über die Gruber-Widalsche Reaktion an den hiesigen Fleckfieberfällen und in der Mitteilung von Conradi und Bieling (12) eine absolute Bestätigung. (Bei einigen fleckfieberkranken Zivilpersonen, die gegen Typhus nicht geimpft waren, blieb auch hier die Typhusagglutination in der Verdünnung 1:75 während des ganzen Krankheitsverlaufes immer aus.)

Der „Fleckfiebererreger“ von Csernell (9) und der *Micrococcus melitensis* wurden an 70 Fleckfieberseren von allen Krankheitsstadien und an 44 Kontrollseren von verschiedenen Erkrankungen (meist Rekonvaleszenten nach Typhus, den Paratyphen und Malaria) auf ihr agglutinatorisches Verhalten geprüft. Für die Ueberlassung des Csernell'schen Bacillus bin ich den Herren Dr. Zlocisti und Dr. Neukirch zu Danke verpflichtet, je einen Stamm von *Micrococcus melitensis* stellten mir in liebenswürdiger Weise Herr Marine-Stabsarzt Dr. Stade und Herr Dr. Neukirch zur Verfügung. Auf die genaue Wiedergabe der Versuchsprotokolle kann angesichts des Endresultates wohl verzichtet werden. Es reagierten positiv:

Tabelle V.

	Fleckfieber- sera		Bis zur Ver- dünnung	Kontrollsera
mit dem Csernellschen Bacillus	in 98	Proz.	1:200	in 95 Proz.
	" 70	"	1:500	" 65 "
	" 30	"	1:2000	" 35 "
mit 2 Stämmen von Micrococcus melitensis	" 21	"	1:50	" 4 "
	" 3	"	1:100	" 0 "
	" 0	"	1:200	" 0 "
mit X ₁₉	" 100	"	1:25	" 8 "
	" 97,5	"	1:50	" 0 "
	" 85	"	1:200	" 0 "

Irgendein konstantes Verhältnis zwischen den Agglutinationswerten gegenüber diesen beiden Mikroorganismen einerseits, und jenen für X₁₉ andererseits konnte nicht festgestellt werden. Ihre Beziehungslosigkeit zum Fleckfieber ergibt sich aus Tabelle V ohne weiteres. Sie zeigte sich auch in allen Fällen, in welchen die Reaktion mit dem Serum desselben Patienten vom Beginne und vom Ende der Fleckfiebererkrankung an- gestellt wurde.

Die Angaben von Baehr, Olitzki und Plotz bezüglich der Agglutination ihres „Bacillus typhi exanthematici“ konnten nicht nachgeprüft werden. Doch ist uns nach privaten Mitteilungen bekannt, daß in zwei österreichischen Universitätsinstituten, weder regelmäßige Agglutination mit Fleckfieberseren noch Ausbleiben derselben bei Kontrollseren beobachtet worden sind. Auch Otto (13) und Dietrich (4) haben diesbezüglich ähnliche Befunde mitgeteilt.

Was endlich die Agglutination der „Fleckfiebererreger“ von Petruschky, Fürth, Rabinowitsch mit Fleckfieberserum anbelangt, deren Nachprüfung uns leider nicht möglich war, so gestattet wohl der Hinweis darauf, daß die Agglutination mit diesen Mikroorganismen niemals zu diagnostischen Zwecken empfohlen worden ist, die Schlußfolgerung, daß diesen Reaktionen die zu fordernde Regelmäßigkeit und Spezifität fehlen.

Es liegt daher, wenn man auf dem Boden der objektiven Tatsachen bleibt, keinerlei Berechtigung vor, die agglutinatorischen Beziehungen all dieser Mikroorganismen

zum Fleckfieberserum in theoretischer Beziehung mit der Agglutination von X_{19} zu identifizieren, ebensowenig auch sie als Paragglutination im Sinne von Kuhn und Woithe anzusehen (s. Dietrich, 4). Dazu fehlen diesen Beziehungen schlechthin alle notwendigen Kriterien.

Aber auch die Ansicht Dietrichs, daß die Fleckfieberreaktion mit X_{19} als eine Paragglutination aufzufassen sei, ist nicht genügend begründet. Seine Beobachtung, „daß länger fortgezüchtete Generationen in ihrer Agglutinationsfähigkeit nachlassen“, die zur Stütze dieser Auffassung angeführt wird, können wir nicht bestätigen. Unsere Stämme zeigen nach mehreren hundert Ueberimpfungen ihre kulturellen und serologischen Eigenschaften absolut unverändert. Auch der Unterschied in der Agglutinabilität der Stämme vom Typus X_2 und Typus X_{19} ist ohne Heranziehung der Paragglutination zumindest ebenso leicht zu erklären, wie mit ihrer Hilfe. Gegen die Annahme einer Paragglutination spricht ohne weiteres nach allen Erfahrungen das oben beschriebene Auftreten der Hemmung. (Es mag an dieser Stelle erwähnt werden, daß das Serum eines Affen, der mit X_{19} behandelt wurde, die Agglutinationsbehinderung in ähnlicher Weise zeigte.) Trotzdem die Züchtung der X-Stämme nicht häufig und nicht leicht gelingt — was jedoch aus der Kenntnis ihrer biologischen Eigenschaften verständlich wird — liegt für uns keine Veranlassung vor, für das Zustandekommen der Agglutinationsreaktion eine andere Erklärung zu suchen, als die von Weil und Felix (6) gegebene, daß nämlich die Agglutination deshalb auftritt, „weil der spezifische Proteus im Organismus des Fleckfieberkranken — und ausschließlich dort — vorkommt und daselbst eine spezifische Tätigkeit entfaltet“.

Zusammenfassung.

1) Sera von Fleckfieberkranken aus der asiatischen Türkei zeigen die von Weil und Felix beschriebene Agglutinationsreaktion mit dem spezifischen Proteus X_{19} in 100 Proz.

2) Heterologe Krankenserum zeigen auch hier die Normalagglutination bei 1 : 25, selten bei 1 : 50, nur in etwa 10 Proz. der Fälle.

3) Die früher beschriebenen zwei Typen der Agglutinationskurve wurden hier in gleicher Weise wieder festgestellt.

4) Die Serodiagnose des Fleckfiebers nach Weil-Felix konnte daher auch während dieser Epidemie mit Erfolg angewendet werden.

5) In dem häufigeren Ausbleiben der Agglutination mit X_2 und dem häufigen Auftreten der Hemmung der Agglutinationsreaktion wurden zwei Abweichungen gegenüber der Epidemie am galizisch-russischen Kriegsschauplatze im Jahre 1915/16 gefunden.

6) Die Ansicht mancher Autoren, daß die Agglutinationsreaktion mit X_{19} auf die „polyagglutinatorische“ Eigenschaft des Fleckfieberserums oder auf Paragglutination zurückzuführen sei, beruht auf einer irrtümlichen Bewertung der beschriebenen agglutinatorischen Beziehungen des Fleckfieberserums zu den verschiedenen „Fleckfiebererregern“.

Für die wertvolle Unterstützung bei der Durchführung dieser Untersuchungen sei insbesondere dem Leiter der Deutschen Rote-Kreuz-Mission in Konstantinopel, Herrn Dr. Zlocisti, sowie den behandelnden Aerzten, den Herren Drn. Neukirch, Wagenseil und Feinstein, auch an dieser Stelle herzlich gedankt.

Literatur.

- 1) Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 2.
- 2) Berliner klin. Wochenschr., 1916, No. 32.
- 3) Feldärztl. Blätter der k. u. k. 2. Armee, 1916, No. 11.
- 4) Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 51.
- 5) Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 28.
- 6) Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 31.
- 7) Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 49.
- 8) Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 19.
- 9) Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 35.
- 10) Annales de l'Inst. Pasteur, T. 24, 1910, p. 243.
- 11) Med. Klinik, 1909, No. 45.
- 12) Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 42.
- 13) Med. Klinik, 1916, No. 44.

(G. C.)

*Nachdruck verboten.***Komplementschwund bei unbehandelter Spätsyphilis.**

Von

Oberarzt Dr. **Eicke** und stud. med. **W. Mascher**,
z. Zt. bei einem Kriegslazarett.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Mai 1917.)

Jedes gesunde menschliche Serum enthält im frischen Zustande Hämolysine, die es befähigen, die roten Blutkörperchen des Hammels aufzulösen. Diese Lösungskraft, auch hämolytische Kraft genannt, ist ziemlich beträchtlich. Noch 0,06 ccm eines Serums sind imstande, 0,5 ccm einer 5-proz. Hammelblutaufschwemmung fast komplett zu lösen. Durch die Untersuchungen Kafkas, Popoffs, Hieronymus' u. a. wissen wir, daß gewisse pathologische Seren diese Fähigkeit teilweise oder gänzlich einbüßen können. Abgesehen von schweren körperlichen Erkrankungen, zeigen die Sera von Fällen cerebraler Syphilis dieses Phänomen am ausgesprochensten.

Während man bisher angenommen hatte, daß diese Erscheinung bereits intra corpus vorhanden sei, bewies Mandelbaum an zahlreichen Untersuchungen, daß eine Verminderung der hämolytischen Kraft, die er auf Komplementschwund zurückführt, immer erst extra corpus, nach der Gerinnung, auftrate. Er behauptete, daß alle Seren, wenn sie unmittelbar nach der Entnahme untersucht werden, gleichen Komplementgehalt aufweisen. Gleichzeitig stellte er weiter fest, daß es insbesondere luische Seren sind, die bei Aufbewahren innerhalb 24 Stunden ihre hämolytische Kraft einbüßen. Es sei dabei gleichgültig, ob das Serum allein oder mit Blutkuchen aufbewahrt würde. Dagegen behalte das Serum seine volle Lösungskraft, wenn man es mit dem Blutkuchen im Brutschrank halte. Das waren zweifellos interessante Ergebnisse, die das in Frage stehende Phänomen von einer ganz anderen Seite beleuchteten. Mandelbaums Untersuchungen haben teilweise Nachprüfungen erfahren, von Kafka-Haas¹⁾ und von unserer Seite²⁾. Erstere konnten Mandelbaums Angaben, daß im frischen Zustand alle Seren Komplement enthalten, nur

1) Kafka-Haas, Med. Klinik, 1916, No. 50.

2) Eicke, Dermatol. Wochenschr., 1917, No. 2.

zum Teil bestätigen; sie erwähnen Fälle, die, obwohl frisch untersucht, schon Komplementverminderung aufwiesen, und äußern daraufhin Zweifel an der allgemeinen Gültigkeit des von Mandelbaum aufgestellten Satzes. Hinsichtlich des Vorkommens eines Komplementschwundes nach 24-stündigem Aufbewahren berechnen Kafka-Haas bei Wassermann-positiven Fällen 16 Proz., während Mandelbaum 55 Proz. angibt. Nachprüfungen über die weiteren Untersuchungen finden sich bei Kafka-Haas nicht. In unserer oben genannten Arbeit hatten wir uns nur mit der hämolytischen Kraft des aktiven luischen Serums befaßt, dabei also die hämolytischen Komponenten, Komplement und Normalambozeptor, in ihrem Zusammenwirken studiert.

Die von uns angewandte Kafkasche Methode ermöglicht in einfachster Weise eine Untersuchung der hämolytischen Fähigkeiten eines Serums und erfordert am wenigsten serologische Vorbereitungen im Gegensatz zu den Methoden, die mit fremdem Komplement und Immunambozeptor arbeiten. Es erschien auch aussichtsvoller, zunächst einmal die absolute Lösungskraft eines Serums zu ermitteln, um dann erst den komplizierteren Verhältnissen nachzugehen. Wir möchten damit jenen Methoden, die fremdes Komplement und Immunambozeptor heranziehen, durchaus nicht eine Bedeutung absprechen; wir haben von ihnen bei den folgenden Versuchen sogar ausgiebigen Gebrauch gemacht. Wir setzten das aktive Serum in fallenden Mengen 0,25 bis 0,05 ccm an. Nach Zusatz von 0,5 ccm einer 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und Auffüllen auf 1 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung kommt das Gemisch auf eine Stunde in den Brutschrank. Fehlende oder vorhandene hämolytische Kraft gibt sich durch Hemmung oder Hämolyse kund. Zwischenstufen kann man mit Ziffern bezeichnen, wie das Kafka-Haas tun. Zur schnellen Orientierung genügt es vollkommen, 0,1 ccm des fraglichen Serums anzusetzen. Der kürzeren Ausdrucksweise halber hatten wir eine Hemmung der Hämolyse als positive HR (Hämolysinreaktion) analog der positiven WR (Wassermannschen Reaktion) bezeichnet. Das „positiv“ sollte nur das Pathologische ausdrücken.

Die Verhältnisse, die wir bei der Lues vorfanden, waren in mehrfacher Hinsicht interessant. Auch praktisch ergaben sich einige wichtige Folgerungen. In bezug auf Einzelheiten

sei auf unsere ausführliche Arbeit verwiesen. Wir fanden bei Lues nur unter gewissen Bedingungen eine Abnahme der hämolytischen Kraft. Besonders waren es die Sera von Patienten, deren Infektion weit zurücklag, und die eine ungenügende Behandlung durchgemacht hatten, die am deutlichsten dieses Phänomen zeigten. Diese Sera, überwiegend Wassermann-positiv, verhielten sich serologisch ungemein hartnäckig, auch energischen antiluischen Kuren gegenüber, so daß von einem gewissen Zusammenhang gesprochen werden mußte. Durch die Therapie ließ sich eine herabgesetzte hämolytische Kraft wesentlich bessern; besonders im Salvarsan fanden wir ein Mittel, das die Hämolsine des Blutes auffallend günstig beeinflußte. Da sich besonders häufig bei cerebraler Syphilis herabgesetzte Lösungskraft des Serums findet, betrachteten wir diese Erscheinung als Indikation für eine Lumbalpunktion. Den Prozentsatz des Vorkommens völligen Schwundes der hämolytischen Kraft berechneten wir mit 14 Proz. aller Wassermann-positiven Seren. Da primäre und sekundäre Syphilis das Phänomen seltener zeigen, erscheint der Prozentsatz so niedrig. [Es sei hier bemerkt, daß die Seren nach spontaner Auspressung, also immerhin nach einigen Stunden, untersucht wurden und nicht nach unmittelbarer Gewinnung mit der Zentrifuge.] Wir kommen also mit unseren Zahlen denen von Kafka-Haas ungefähr gleich, dagegen können wir Mandelbaums 55 Proz. unmöglich zustimmen. Selbst jetzt, wo wir nach 24-stündiger Aufbewahrung untersuchen, und unter Hinzurechnung der Fälle mit leichter Herabsetzung der hämolytischen Kraft, kommen wir nur auf 45 Proz.

Wir hatten also bei weit zurückliegender Infektion und ungenügender Behandlung — es kommen sicher noch andere Faktoren in Betracht, die wir noch nicht näher kennen — in erster Linie eine herabgesetzte hämolytische Kraft festgestellt. War diese Behauptung richtig, dann müßte dieses Phänomen in besonderem Maße sich bei solchen Kranken finden, die nichts von ihrer Ansteckung wissen und infolgedessen auch nie behandelt wurden. Eine Durchsicht unserer zahlreichen Fälle von latenter und tertiärer Syphilis ergab die völlige Bestätigung unserer Behauptungen. Unter ihnen

waren 27, bei denen obige Voraussetzungen zutrafen. Es handelte sich hier um Kranke, bei denen bei Gelegenheit ein positiver Wassermann gefunden wurde, oder die durch Ausbruch tertiärer Erscheinungen überrascht wurden. Es ist selbstverständlich, daß die Diagnose Syphilis in allen latenten Fällen durch mehrfache Untersuchungen der Seren in verschiedenen Laboratorien absolut sicher erhärtet wurde, wobei nur völlige Hemmung mit spezifischen Extrakten als positiv galt. Von diesen 27 Kranken zeigten 19 völlige Aufhebung der hämolysischen Kraft, 3 solche mittleren Grades und 5 wiesen regelrechte Lösungskraft auf. Das ist ein ganz erheblicher Prozentsatz.

Von den 19 Kranken hatten 7 eine tertiäre Lues, 16 hatten keine Erscheinungen, waren nur Wassermann-positiv, und einer hatte eine Tabes. Sämtliche 27 Kranken waren niemals in ihrem Leben antisyphilitisch behandelt worden. Nur ein Teil von ihnen wußte Angaben über eine vermutliche Ansteckung zu machen. Es erinnerten sich einige, 1906, andere in den Jahren 1910 oder 1911 Wundstellen am Glied gehabt zu haben, die aber von selbst verheilt seien. Von den 5 regelrechte Verhältnisse zeigenden Fällen waren keine Angaben zu erheben.

Da es sich bei diesen um Männer zwischen 25 und 30 Jahren handelte, ist die Annahme gerechtfertigt, daß hier eine Infektion erst kürzlich erfolgt ist. Diese Fälle sind daher wahrscheinlich gar nicht der Spätsyphilis zuzurechnen und müßten eigentlich ausscheiden. Nach unseren Erfahrungen scheinen mehrere Jahre zu vergehen, bis sich ein Einfluß auf die Hämolysine bemerkbar macht. Die Krankengeschichten bieten nichts Charakteristisches. Es sei nur der Tabesfall mitgeteilt, dessen Serum uns die vorliegenden Verhältnisse demonstrieren soll.

Schm., 43 Jahre. Nie ernstlich krank. Vor 20 Jahren Tripper. Von einer luischen Infektion nichts bekannt. Hat die Strapazen des Feldzuges ohne Schwierigkeiten überstanden. Wegen Krätze und Furunkulose Aufnahme in das Lazarett. Hier wird eine Starre der linken Pupille auf Lichteinfall festgestellt. Reaktion auf Akkommodation erhalten. Rechte Pupille, etwas enger als die linke, reagiert träge. WR positiv. Das Serum zeigt nach 24 Stunden völligen Schwund seiner hämolysischen Kraft. Daraufhin Lumbalpunktion. [Die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens cerebraler Veränderungen war hier allerdings bereits durch die Pupillenstarre gegeben.] Irgendwelche anderen für Tabes oder Paralyse sprechenden Er-

scheinungen waren nicht aufzufinden. Der Liquor ist klar. Pandý: + + +, Nonne-Apelt: Opaleszenz. Gesamteiweiß nach Brandberg-Stollnikow: 0,75 Prom. Zellen (nach der französischen Methode): 21. WR: positiv, bis 0,1 völlige Hemmung. Die Hämolyse-Reaktionen im Liquor konnten leider nicht ausgeführt werden

Mit dem Serum wurden nun weitere Versuche angestellt.

Abnahme des Blutes in 3 Gläsern. Das erste kommt sofort in die Zentrifuge und das so gewonnene Serum in den Eisschrank. Das zweite kommt unmittelbar in den Brutschrank, das dritte wird bei Eisschranktemperatur aufbewahrt, bei beiden wird die spontane Auspressung des Serums abgewartet. Tabelle I zeigt uns, welche Veränderungen die hämolytische Kraft dieses Serums beim Aufbewahren erfährt. Tabelle II stellt zum Vergleich ein luisches Serum des floriden Stadiums dar.

Tabelle I.

	frisch zentrifug.	Untersuchung nach Stunden															
		1		3		4		7		10		12		24		26	
		Br	E	Br	E	Br	E	Br	E	Br	E	Br	E	Br	E	Br	E
0,25	k	k	k	k	st	.	m	k	sp	fk	0	fk	0	fk	0	st	0
0,1	k	fk	m	fk	w	.	0	fk	0	st	0	st	0	st	0	m	0

Tabelle II.

	frisch zentrifug.	Untersuchung nach Stunden															
		1		3		4		7		10		12		24		26	
		Br	E	Br	E	Br	E	Br	E	Br	E	Br	E	Br	E	Br	E
0,25	k	k	k	k	.	.	k	k	k	.	.	k	k	k	k	k	k
0,1	k	k	k	k	.	.	k	k	k	.	.	k	k	k	fk	k	st

Br = Serum mit Blutkuchen im Brutschrank aufbewahrt; E = Serum ohne Blutkuchen im Eisschrank aufbewahrt; k = komplette, fk = fast komplette, st = starke, m = mäßige, w = wenig, Sp = Spur, 0 = keine Hämolyse.

Es zeigte also das ohne Blutkuchen aufbewahrte Serum bereits nach 4 Stunden mit 0,1 ccm völlige Hemmung; nach 10 Stunden auch solche mit 0,25 ccm. Das mit Blutkuchen im Brutschrank gehaltene Serum hatte noch nach 24 Stunden gute Lösungskraft und ging erst dann in den Hemmungszustand über. Das bei Eisschranktemperatur mit Blutkuchen aufbewahrte Serum verhielt sich wie das erstere. Das gegen-

übergestellte Serum einer frischen Lues zeigte innerhalb 24 Stunden keine Abnahme seiner hämolytischen Kraft. Wir suchten nun weiter zu ermitteln, welchen Anteil die hämolytischen Komponenten, das Komplement und der Normalambozeptor, am Zustandekommen der Hemmung haben. Das hemmende aktive Serum wird mit Meerschweinchenkomplement versetzt: keine Hämolyse. Dasselbe Serum unter Zusatz von Immunambozeptor: keine Hämolyse; ebenso zeigte das inaktivierte Serum nach Zusatz von Meerschweinchenkomplement keine Hämolyse. Die Ursache der Hemmung beruht also in diesem Falle auf einem Zugrundegehen von Komplement und Normalambozeptor.

Wir hatten bisher nur allgemein von der hämolytischen Kraft und ihrer Abnahme bei luischen Seren gesprochen, da uns der Anteil der einzelnen hämolytischen Komponenten noch nicht genügend feststand. Nach zahlreichen diesbezüglichen Versuchen müssen wir zu dem Schluß kommen, daß die Aufhebung der hämolytischen Kraft überwiegend der Ausdruck eines Komplementschwundes ist. Ein isolierter Schwund des Normalambozeptors findet sich höchst selten; häufiger dagegen ist das Zugrundegehen beider, wie im obigen Falle. Wir wollen daher im folgenden von Komplementschwund sprechen, da hierdurch die Ursache des in Frage stehenden Phänomens präziser ausgedrückt wird.

Es war nur in einem Teil der 27 Fälle möglich, den zeitlichen Ablauf des Komplementschwundes zu verfolgen. Wir können daher nicht mit Bestimmtheit sagen, ob alle, frisch untersucht, komplementhaltig waren, so daß also der Komplementschwund erst extra corpus erfolgt sein mußte. Jedoch scheint es nach allem, daß völliger Komplementmangel eines Serums, das sofort mittels Zentrifuge gewonnen wurde, wenn es überhaupt vorkommt, eine Seltenheit ist. Auch die Tatsache, daß in manchen Fällen von Paralyse Komplement und Normalambozeptor in den Liquor übergehen, während sie im Serum vermißt werden, mußte eigentlich dafür sprechen, daß beide im strömenden Blut vorhanden waren. Wir haben zwar einige Male beobachtet, daß sich bei quantitativem Ansetzen auch bei einem auf solche Weise gewonnenen Serum in den

niederen Mengen eine geringe Abnahme der Lösungskraft bemerkbar machte. Wir möchten jedoch diesen Befund nicht im Sinne einer tatsächlich schon im strömenden Blut vorhanden gewesenen Komplementverarmung ansprechen. Es vergeht vom Augenblick der Venenpunktion bis zum Einbringen des Versuches in den Brutschrank immerhin eine Zeitspanne, die unter Umständen zu einer Komplementschädigung genügt. Auch ist zu bedenken, daß die Erschütterungen der Zentrifuge, das Ab- und Ueberpipettieren, das langsame Anwärmen auf 37°, alles Momente sind, die bei einer besonders labilen Zusammensetzung der Komplementkomponenten zerstörend wirken können. Daß es sich tatsächlich um extravitale Schädigungen handelt, darf wohl auch daraus abgeleitet werden, daß bei sofortigem Einbringen des Blutes in den Brutschrank dasselbe Serum, spontan abgesetzt, quantitativ völlig regelrechte Lösungskraft zeigte. Wenn man nicht annehmen will, daß der normale Ablauf des Gerinnungsprozesses zur Bildung der vollen Komplementmenge nötig ist, käme nur noch die Annahme in Betracht, daß durch die Bebrütung im Brutschrank direkt eine Sekretion von Komplement stattfindet. Um letztere kann es sich wohl nicht handeln, denn wir konnten niemals, wie auch Mandelbaum, eine Vermehrung des Komplements feststellen noch auch beobachten, daß ein komplementlos gewordenes Serum durch Bebrütung mit seinem Blutkuchen seine volle Lösungskraft wiedererhielt.

Wir verfügen neben den oben aufgeführten Seren noch über eine weit größere Zahl, die dasselbe Phänomen des Komplementschwundes aufweisen. Es sind allerdings behandelte Fälle, die jedoch eine solch unzureichende Behandlung durchgemacht haben, meist nur eine Schmierkur, daß auch bei diesen an einem Zusammenhang nicht zu zweifeln ist. Wenn auch gelegentlich eine geringe Komplementverarmung im strömenden Blut vorkommen mag, so halten wir es doch für ausgeschlossen, daß völliger Komplementmangel in vivo irgendeine Rolle spielt. Den völligen Komplementschwund müssen wir daher als extra corpus erfolgt ansehen.

Es galt nun weiter zu untersuchen, ob im zeitlichen Ablauf dieses Vorganges sich Unterschiede oder Beziehungen zwischen verschiedenen Seren ergeben. Vor allem stand auch noch die Frage zur Erörterung, ob nicht überhaupt der Komplementschwund in vitro als gewissermaßen postmortale Erscheinung allen menschlichen Seren eigen ist und hier vielleicht nur zeitliche Differenzen bestehen. Solche bestehen nun tatsächlich.

Daß das Komplement bei längerem Aufbewahren in jedem Serum zugrunde geht, ist bereits seit längerer Zeit bekannt. Es muß also in dem Zugrundegehen innerhalb weniger Stunden ein gewisses Charakteristikum liegen, das solche Seren vor anderen auszeichnet, und das sich durch die Zeitdauer ohne weiteres nicht erklären läßt. Wir gingen nun weiter so vor, daß wir luische Seren, die das Phänomen des Komplementschwundes nach 24 Stunden darbieten, solche, deren Komplement erhalten bleibt, und normale Seren unmittelbar von der Zentrifuge an stundenweise ansetzten (siehe Tabelle I und II). Frisch untersucht, zeigten alle gleiche Lösungskraft. Nun fällt innerhalb 24 Stunden sozusagen die Entscheidung. Das Serum eines Syphilitikers, der schlecht oder gar nicht behandelt wurde, und dessen Infektion längere Zeit zurückliegt — Ausnahmen kommen vor — zeigt, wie sich von Stunde zu Stunde sein Hämolysintiter verschlechtert. Es geschieht dies meistens so schnell, daß nach unseren Erfahrungen bereits in 6 Stunden ein großer Teil dieser Seren den völligen Hemmungsgrad erreicht hat, doch können größere Zeitunterschiede bestehen. Es bedarf weiterer Untersuchungen, ob die Zeit von 24 Stunden nicht schon so hoch gegriffen ist, daß das Charakteristische der Erscheinung aufgehört hat und mittlerweile sozusagen rein postmortale Prozesse eingesetzt haben.

Der Gedanke lag weiter nahe, ob nicht luische Seren überhaupt schneller ihr Komplement verlieren, als gemeiniglich gesunde Seren, so daß bejahendenfalls dieses Phänomen eine Allgemeinerscheinung aller luischen Seren wäre und nur gewisse zeitliche Unterschiede beständen. Das ganze Problem würde sich in diesem Falle wesentlich vereinfachen. Unsere

Untersuchungen zeigten jedoch, daß sich Unterschiede zwischen luischen und Normalseren hinsichtlich der Schnelligkeit des Komplementschwundes nicht ergaben, sondern vielmehr wahllos bald das eine, bald das andere in den Zustand völligen Komplementschwundes übergang. Im allgemeinen ist dies nach 3 bis 4 Tagen der Fall. Ausnahmen sahen wir mitunter bei Seren, die von intensiv mit Salvarsan behandelten Kranken stammten, und die auch schon im frischen Zustande hervorragend gelöst hatten. Stark lösten auch Seren der ganz frischen floriden Lues. Hierin ist vielleicht der Ausdruck einer durch den infektiösen Prozeß hervorgerufenen Eiweißvermehrung zu erblicken, was für die Theorie der Eiweißnatur des Komplements sprechen könnte. Nach allem ist also der frühzeitige Komplementschwund eine Erscheinung, die nur einer umschriebenen Gruppe von Luesseren eigen ist.

Wir hatten bereits oben erwähnt und diese Tatsache auch in unserer Arbeit in der Dermatologischen Wochenschrift an Kurven demonstriert, daß die antisypilitische Behandlung die hämolytische Kraft wesentlich zu bessern imstande ist. Will man dies unter der Behandlung verfolgen, so ist das nicht so augenfällig, wenn man quantitativ ansetzt, vielmehr kann man durch stundenweises Ansetzen den durch die Therapie beeinflussten zeitlichen Ablauf des Komplementschwundes gut beobachten. Ein solcher kann, wie wir erwähnten, schon nach 3, aber auch erst nach 20 Stunden auftreten. In beiden Fällen ist das Ergebnis nach 24 Stunden dasselbe, und doch liegt ein ganz ungleichartiges, in seinem Werte verschieden zu beurteilendes Verhalten vor. Es ist daher zunächst die Zeit, nach der völliger Komplementschwund auftritt, zu bestimmen. Ist dies zu Beginn der Behandlung etwa nach 3 Stunden der Fall, so wird sich während dieser zeigen, daß immer längere Zeit nötig wird, bis der völlige Hemmungsgrad erreicht ist.

Von den weiteren Mandelbaumschen Untersuchungen war die Tatsache neu, daß mit Blutkuchen im Brutschrank aufbewahrtes Serum sein Komplement unverändert behält (Sozinetheorie). In der Mehrzahl der oben aufgeführten Fälle

haben wir gleichzeitig das Serum im Brutschrank absetzen lassen und bei 37° über Nacht aufbewahrt. Wir konnten in allen untersuchten Seren feststellen, daß sich die Lösungskraft bei diesen ziemlich unverändert erhält, und daß keine Abnahme wie bei demselben ohne Blutkuchen im Eisschrank aufbewahrten Serum eintritt. Längere Zeit läßt sich jedoch dieser Versuch nicht fortsetzen, denn etwa nach 2 bis 3 Tagen zeigt auch solches im Brutschrank mit Blutkuchen gehaltenes Serum völligen Komplementschwund. Ein Unterschied gegen Normalseren besteht nicht. Der weitere Befund, daß mit Blutkuchen im Eisschrank gehaltenes Serum genau so sein Komplement verliert, entspricht auch unseren Erfahrungen.

Wir haben uns in der Besprechung der vorliegenden Fragen kurz gefaßt, um erst einmal das Wesentlichste, soweit unsere Untersuchungen uns ein Urteil erlauben, mitzuteilen. Diese für die Luespathologie so wichtigen Erscheinungen sind bisher kaum näher untersucht, geschweige denn geklärt. Es ist daher wohl angebracht, die zur Erörterung stehenden Fragen in einigen Punkten zur Richtschnur für weitere Forschungen zusammenzufassen:

- 1) Haben frisch untersuchte Seren, einerlei ob normal oder pathologisch, alle den gleichen Komplementgehalt?
- 2) Kommt dem bei Aufbewahren der Seren innerhalb 24 Stunden auftretenden Komplementschwund irgendwelche diagnostische Bedeutung zu, insonderheit hinsichtlich des Vorliegens cerebraler Veränderungen?
- 3) Warum tritt in diesen Fällen ein Komplementschwund bereits in wenigen Stunden auf, in anderen erst nach Tagen, und welche Prozesse führen in vivo dazu, dem Komplement solche Empfindlichkeit zu verleihen?
- 4) Findet sich das Phänomen des Komplementschwundes nur bei Lues, und bestehen Beziehungen zu Krankheitsverlauf und positivem Wassermann?

Zusammenfassung.

- 1) Der völlige Komplementschwund ist in der Tat eine Erscheinung, die erst extra corpus auftritt. Frisch untersucht, zeigen fast alle Seren den gleichen Komplementgehalt. Die

mitunter sich zeigende geringe Herabsetzung kann möglicherweise der Technik zur Last liegen.

2) Dem innerhalb 24 Stunden, besser noch innerhalb kürzerer Zeit auftretenden Komplementschwund kommt eine diagnostische Bedeutung zu, indem sich dieses Phänomen überwiegend bei Lues findet und hier an eine cerebrale Affektion denken läßt.

3) Komplementschwund findet sich in erster Linie bei veralteten Luesfällen, die gar nicht oder nur ungenügend behandelt sind. Gleichzeitig ist fast immer die Wassermannsche Reaktion positiv. Sie ist in solchen Fällen ungemein hartnäckig. Dem Komplementschwund kommt also auch hier eine prognostische Bedeutung zu. (G. C.)

st.

